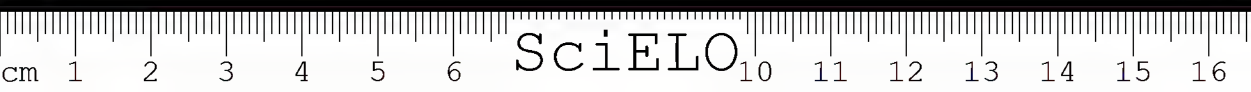
MEMÓRIAS INSTITUTO BUTANTAN

1969

VOLUME XXXIV

SAO PAULO - BRASIL
CAIXA POSTAL 65




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

1969

VOLUME XXXIV



São Paulo - Capital
Caixa Postal 65



As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" são destinadas à publicação de trabalhos realizados no Instituto ou com a sua contribuição. Os trabalhos são reunidos anualmente num volume.

Serão fornecidos, a pedido, separatas dos trabalhos publicados nas "MEMÓRIAS", solicitando-se nesse caso o obséquio de enviar outras separatas, em permuta, para a Biblioteca do Instituto.

Tôda a correspondência editorial deve ser dirigida ao:

INSTITUTO BUTANTAN
Biblioteca
Caixa Postal, 65
São Paulo, BRASIL

•

EXCHANGE DESIRED
PEDE-SE PERMUTA

•



MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN

ÍNDICE

VOLUME XXXIV

1969


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

ERRATA FOR MEM. INSTITUTO BUTANTAN 33(1): 1966

HOUSSAY, B. A. — TRANSCENDENCE OF VITAL BRAZIL'S WORK

Page XIV — line 30 — *For Elaps read Micrurus*

Page XV — line 10, 13 — *For* Rosenberg *read* Rosenfeld

MERTENS R. — UNTERLAGEN ZUR ÖKOLOGIE, ETHOLOGIE, UND EVOLUTION DER BAUMSCHLANGEN (ARBORICOLOUS SNAKES: THEIR ECOLOGY, GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION AND EVOLUTION)

Page 85 — line 3 — *For* ecology *read* evolution
line 27 — *For longicauta read longicauda*
line 31 — *For* Milos *read* Milos und in Marokko
line 40 — *For* nähmlich *read* nämlich

Page 86 — line 1 — *For* zu weilen *read* zuweilen
line 2 — *For* Verwandschaft *read* Verwandtschaft
line 3 — *For* Konvergens *read* Konvergenz
line 6 — *For* nähmlich *read* nämlich
line 8 — *For* seitlichen *read* seitlich
line 21 — *For* also *read* ,also
line 22 — *For* auffälig *read* auffällig
line 33 — *For* Längereihen *read* Längsreihen
line 36/37 — *For* verg-leicht *read* vergleicht
line 50 — *For* Arten schwächer *read* Arten, schwächer

Page 87 — line 1 — *For* der Gonyiphis *read* dem *Gonyophis*
line 4 — *For* wenigen *read* wenige
line 5 — *For* Fortbewegung die *read* Fortbewegung, die
line 19 — *For* Baumberwohnern *read* Baumbewohnern
line 47 — *For* nähmlich *read* nämlich

Page 88 — lines 1-3 — *read* daischen *Ahaetulla* und *Dryophiops* sowie die äthiopische *Thelotornis*. Je nach dem Ruhezustande schwankt die eigenartige Pupillenform bei *Ahaetulla* und *Thelotornis*, indem sie sich bei schlafenden Tieren erheblich zusammenzicht. Die Bedeutung einer derartigen

line 18 — *For* Biss- *read* Biss
line 19 — *For* Columbian *read* Columbien
line 24 — *For* der *read* oder
line 34 — *For* Erpeton längere *read* *Erpeton*- längere
line 49 — *For Dendrelapis read Dendrelaphis*

Page 89 — line 16 — *For seneus read aeneus*
line 17 — *For* Lebenswesen, auch die *read* Lebewesen, auch der
line 19 — *For* grösstmögliche *read* grösstmögliches
line 21 — *For* garnicht, *read* garnicht
line 23 — *For oxyrhyncus read oxyrhynchus*
line 23/24 — *For Chlorophi read Chlorophis*
line 32 — *For* auffalende *read* auffallende
line 33 — *For* kontrastierenyde *read* kontrastierende
For Biespiel *read* Beispiel
line 38 — *For* (*Dendroaspis*) *read* (*Dendroaspis*).

Page 90 — line 14 — *For Philothamus read Philothamnus*
line 22 — *For* Baumsch-langen *read* Baum-schlangen
line 26 — *For* (*Ahaetulla* Arten, *read* (*Ahaetulla*-Arten,
line 30 — *For Philothamus read Philothamnus*
line 35 — *For* Eingans *read* eingangs
line 38 — *For* Blutverwandschaft *read* Blutsverwandtschaft
line 40 — *For* zusammenhängende *read* zusammenhängenden
line 43 — *For* verwandschaftlichen *read* verwandtschaftlichen
line 50 — *For Langaha read Langaha; For* verwandschaftliche *read* verwandtschaftliche

Page 91 — line 2 — *For* Strauch oder Baumbewehner *read* Strauch- oder Baumbewohner
line 4 — *For Chrysopeles read Chrysopelea*
line 5 — *For Philothamus read Philothamnus*
line 21 — *For* Verwandschaftsverhältniss *read* Verwandtschafts verhältnis
line 25/26 — *For Thelotornis* engere verwandschaftliche *read Thelotornis* eine engere verwandtschaftliche
line 30 — *For typus* einer *read typus,* einer
line 31/32 — *For* FitzSimon *read* FitzSimons
line 33 — *For Philothamus read Philothamnus*

Klemmer, K. — Observations On The Biology Of Sea Snakes — *Hydrophiidae*. With Remarks On Their Systematics

Page 101 — line 6 — *For* Aegean region *read* Asian region
line 10 — *For* Tahal-sea *read* Lake Taal
line 11 — *For* Renon Island on the Salomons *read* Rennell island of the Salomons
line 16 — *For* the genus *Laticauda laticauda laticaudata read* the species *Laticauda laticaudata*
line 21 — *For Blenis, Dobis,* viviparous *Blenis read Blennius, Gobius, Zoarces viviparus*
line 36 — *For* Bergmann *read* Bergman
line 37 — *For* of more than 400 *read* of these

Page 102 — line 6 — *For* Worries *read* Voris
line 11 — *For* chemiotectedly *read* by chemotactic approach

line 20 — *For* aquariae *read* aquaria
line 33 — *For Laticauda latieauda laticau- read Laticauda laticau-*
line 37/39 — *For Pelamys read Pelamis*
line 40 — *For* Shore *read* Shaw

Page 103 — line 2 — *For* oviviparous *read* ovoviviparous

CHRISTENSEN P. A. — VENOM AND ANTIVENOM POTENCY ESTIMATION

Page 307 — $f(T) = \log D - \log d = \log [(Kt/(T\text{-}t)^{1/\alpha} + 1]$

Page 313 — After the fourth paragraph ending "and subcutaneously in mice", read from paragraph beginning "Figure 2" on page 316 to the end of the discussion of figure 10 on page 317. Continue thereafter with paragraph beginning "Table 2" on page 313, read to the end of the sixth paragraph on page 314 and continue at "Figure 11" on page 317. At the end of the discussion of figure 11, revert to "Table 3" on page 314, read to the bottom of this page and continue at "Figures 12A & B" on page 317.

Page 316 — Table 3 — *For* fast, 20-40 mins 20° 57.4
64.6 — 56.7
read slow, 20-40 mins 20° 57.4
64.6 — 56.7

Page 323 — Figure 10 — In legend:

Instead of: ◆ substitute for △

Add: ▲ subcutaneous test


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16



VITAL BRAZIL
1865 - 1950

Fundador do Instituto Butantan
Encarregado da organização:
24/12/1899 - 22/2/1901

Diretor:
23/2/1901 - 9/7/1919
16/9/1924 - 1/7/1927

Vital Brazil começa a ter seu interêsse cada vez mais centralizado no problema do ofidismo e vai criando no Instituto Butantan uma equipe e um ambiente propício para êsses trabalhos, mas ao mesmo tempo vai ampliando o campo de estudos, transformando em Instituto de Pesquizas em Medicina Experimental, o que havia sido, no início, um laboratório destinado ao preparo de sôro contra a peste.

Enquanto cumpre a sua obrigação, fornecendo ao Serviço Sanitário do Estado, o sôro e a vacina antipestosa que são empregados no Estado de São Paulo e em outras regiões do Brasil, vai preparando o sôro anticrotálico, o antibotrópico e o antiofídico pela mistura dos dois empregado para neutralizar os venenos de serpentes do gênero *Crotalus* e *Bothrops* (5). Na preparação dêsses sôros imuniza cavalos e muares com veneno não tratado, ao contrário de Calmette que fazia antes agir o hipoclorito de cálcio sôbre o veneno e, de Phisalix e Bertrand que aqueciam o veneno a 80°C; provàvelmente por isso consegue soros bem ativos. Já em 1902 começa a distribuir os soros antiofídicos entre os médicos do Estado de S. Paulo, parecendo que a primeira observação de sua aplicação no homem é a do Dr. Olympio Portugal que clinicava em Araras e tratou com sucesso uma paciente picada por jararacuçu em março de 1902 (5). Em 1903 já inicia a distribuição de soros por vários Estados, desde o Ceará até o Rio Grande do Sul, em 1905 já remete para Cuba e também para Ehrlich na Alemanha para estudos experimentais. Em 1909 os soros já são solicitados no Uruguai e na Argentina. Até 1912 o número de aplicações da soroterapia nos acidentes ofídicos vai aumentando em tôda a parte e a produção de soros antiofídicos cresce ràpidamente, tendo também Vital Brazil iniciado a preparação do sôro antielapídico com B. Rangel Pestana em 1910 (5).

Enquanto isso, vai fazendo trabalhos de laboratório a fim de conhecer melhor as diversas propriedades dos venenos, as melhores maneiras de produzir soros e aumentar-lhe a atividade antitóxica, estudando também a sua conservação e a fase do envenenamento em que o sôro é capaz de evitar a morte. Assim é que, em 1907 analisou os diferentes métodos existentes para a dosagem dos soros, verificando que a neutralização da atividade hemolítica ou da proteolítica não respondia às necessidades. O método clássico de Ehrlich para a dosagem de sôro anti-diftérico, usando quantidade fixa de toxina e diluições do sôro, no caso de soros antiofídicos dá resultados que não satisfaziam integralmente seu espírito meticuloso; depois de numerosas experiências em que demonstra uma grande compreensão dos fenômenos imunológicos e técnica segura, chega a outra maneira de dosar os soros com doses fixas dêste e variáveis de veneno que lhe dá melhores resultados (6). Atualmente êsse problema ainda existe, pois, quem o utiliza e observa os detalhes verifica que realmente não é o ideal, há pontos duvidosos não solucionados. Observou e referiu (7) que. ao se fazer a mistura de sôro e veneno depois da incubação para neutralização, havia uma *precipitação* que era mais evidente *na proximidade* das proporções ótimas para essa *neutralização*, não coincidindo porém, exatamente, com o teste "in vivo", servindo porém de dado orientador. Essa precipitação é a reação de floculação que tem muitas aplicações na imunologia moderna e talvez Vital Brazil tenha sido o primeiro a descrevê-la e utilizá-la na dosagem de soros antivenenos. Desde essa época já adota o uso da *indicação da potência* de cada sôro em miligramas de veneno que cada centímetro cúbico neutraliza (6). Essa indicação, que é indispensável para o uso do sôro, infelizmente ainda não está generalizada em outras partes do mundo.

Estuda a conservação dos soros antitóxicos (8), tanto anti-diftéricos como antipeçonhentos, constata que os primeiros nada perdem de sua atividade dentro de

5 anos, diminuindo sòmente de 13% após 6 ou 7 anos, enquanto os segundos perdem, com variações, até o máximo de 33% de cêrca de 4 anos. É de se assinalar que fêz essas verificações com soros devolvidos e, portanto, que sofreram as condições mais diversas de armazenamento. Conclui por uma afirmativa que foi esquecida e hoje vem sendo propagada após novas verificações: os *soros antipeçonhentos* mesmo com *data vencida* não devem ser inutilizados, *podem ser usados* empregando-se apenas uma dose maior.

Vital Brazil, experimentando em cães (7), verifica que o sôro deve ser aplicado precocemente pois, com doses de veneno ofídico injetado por via intramuscular que provocam a morte em 48 horas, o sôro evitou o desfêcho fatal quando aplicado até 4 horas depois do veneno.

Estudando os diferentes venenos (10) descreve as propriedades coagulantes, hemolíticas e proteolíticas de muitos dêles; assinalou então fato desconhecido dos outros pesquisadores que foi causa de muitas afirmações discordantes; é a sensibilidade diferente de eritrocitos de diversos animais diante de um mesmo veneno. Essa sensibilidade específica foi recentemente redescoberta, tendo servido para uma análise mais ampla do problema.

Quanto à atividade proteolítica dos venenos, afirmou com muita justeza, como resultado de experiências bem simples e claras feitas com Bruno Rangel Pestana (10), que a atividade coagulante dos venenos era independente da proteolítica, noção que já existia porém contraditada; mais tarde foi novamente negada para afinal ser comprovada atualmente. Passou despercebida uma pequena observação que talvez possa servir de ponto de partida para trabalhos interessantes: é a de que o sôro normal é capaz de ativar "in vitro" a ação proteolítica do veneno de cascavel (10), que não é aparente por outros métodos.

Experimenta diversos esquemas de imunização dos animais, a fim de diminuir o risco de perda dos cavalos, e também no intuíto de apressar a obtenção de títulos mais elevados do sôro (10). Tenta, também com bom resultado, a injeção de diferentes venenos simultâneamente, para preparar soros polivalentes (4), completando depois com soros monovalentes as frações menos ativas. A fim de aumentar ainda a potência dos soros, aplica conhecimentos recentemente adquiridos em outros centros: separa as globulinas dos soros, constata que a antitoxina está contida nessa porção de proteína, preparando, assim, soros fracionados e concentrados, livres das sôro-albuminas (9) (11), que chegam a neutralizar por mililitro 3,8 mg de veneno botrópico e 1,3 mg de veneno crotálico nos soros monovalentes, e no sôro polivalente 2,4 mg do primeiro veneno e 0,6 mg do segundo (5).

Num trabalho que deve ter sido muito extenso, estuda com Rangel Pestana (10) a sensibilidade de diversos animais à uma série de venenos. Determina as doses mínimas mortais, demonstra haver uma variação bem acentuada, chegando a conclusões definidas que em parte confirmam trabalhos de outros autores, mas em grande parte são novas aquisições para os conhecimentos da ciência.

Verificou que as aves são mais sensíveis do que os mamíferos, dentro dêstes os herbívoros são mais sensíveis do que os carnívoros e os animais de sangue frio são os mais resistentes de todos. Esclarece que a resistência maior do suíno é devida a uma certa capacidade de neutralização do veneno pelo sôro dêsses animais e não, como supunha Calmette, devida à dificuldade de absorção do veneno em conseqüência da abundância do tecido adiposo. Trabalho publicado há pouco tempo veio demonstrar que, realmente, o tecido adiposo não representa nenhuma proteção à disseminação do veneno no organismo do porco. Ainda dentro

dêste tema de resistência específica faz uma observação sintética interessante, a de que os animais que maior sensibilidade natural apresentam aos venenos são os que produzem mais anticorpos nas imunizações. Ainda com Rangel Pestana (10) injeta venenos ofídicos em serpentes notando uma grande resistência, maior nas espécies peçonhentas e muito maior quando se trata de veneno da mesma espécie. Exceções existem como a da mussurana, ofiófaga não peçonhenta que resiste muito às toxinas botrópica e crotálica e ainda, a falta de resistência de quasi tôdas as serpentes aos venenos elapídicos. Verificou ainda que os soros das serpentes são capazes de neutralizar peçonhas apesar de, por sí só, demonstrarem propriedades tóxicas quando injetados em animais de laboratório. Essa toxicidade dos soros de serpentes havia sido atribuída à presença de veneno por Phisalix e a componentes do mesmo por Calmette, opiniões que as experiências de Vital Brazil e Rangel Pestana mostraram não serem válidas (10).

No seu interêsse por tôdas as faces do problema do ofidismo faz experiências no sentido de verificar se as crendices populares de que aves como a ema, a siriema, o jaburú e os gaviões destroem as serpentes (7). Observou que essas aves não atacaram serpentes venenosas e não venenosas, mesmo quando submetidas a um jejum prévio.

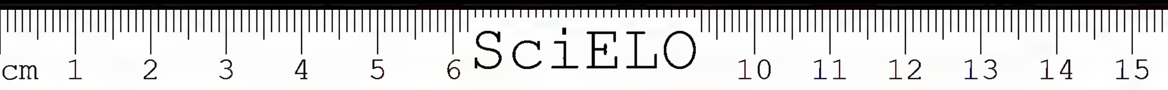
Em 11 de Julho de 1919, depois de quase 21 anos, sai do Instituto Butantan para onde retorna em 1.º de Setembro de 1924, ficando até 1.º de Setembro de 1927. Nesse segundo período vai aumentando o campo de estudo dos animais peçonhentos. Experimenta também os venenos escorpiônicos e aracnídicos, e, em colaboração com Vellard, publica uma grande série de trabalhos sôbre o assunto, preparando também os soros antivenenos correspondentes.

Vital Brazil que havia exercido a profissão médica num período curto mostra, ao lado do espírito de cientista, o de médico, na sua preocupação de divulgar a soroterapia antiofídica.

Já no relatório das atividades do Instituto Butantan em 1901 exprime-se com essas palavras: "Seria muito para desejar que o sôro encontrasse aceitação pronta e geral, concorrendo para diminuir ou suprimir o número de óbitos por mordedura de cobras, que ainda se encontram em nossas estatísticas". Êsse interêsse sempre o norteou e encontrou ainda as fórmulas para aplicá-lo pràticamente. No meio médico e científico do Brasil faz contìnuamente palestras e conferências que estendia também aos meios leigos que estivessem ou pudessem estar próximo aos meios rurais.

Em virtude da repercussão de seus trabalhos no 5.º Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia, realizado no Rio de Janeiro em Junho de 1903, o Congresso Nacional custeou uma viagem "para o Dr. Vital Brazil divulgar na Europa os seus estudos sôbre o envenenamento ofídico, submetendo à apreciação dos competentes os seruns preparados no Instituto de Butantan" (12). Nessa viagem feita durante o ano de 1904, trava relações pessoais com os cientistas interessados em venenos e imunologia e, a partir dessa época, mantém contatos permanentes no estrangeiro que muito auxiliaram o progresso dos trabalhos e sua divulgação.

Mantém uma promoção ativa e continuada em todos os ambientes, o que resulta numa extensão rápida da soroterapia antiofídica no Brasil e em países vizinhos. Vital Brazil mostra dotes excepcionais como divulgador, criando e mantendo uma campanha antiofídica permanente. Cria também para isso um sistema de remessas de serpentes que, em 1903, consegue fornecer ao Butantan 159 ofídios de vários lugares de S. Paulo e em 1911 já atinge o volume de 3.322 cobras. Cria o serviço de permuta, fornecendo em troca soros antiofídicos e tam-



bém seringas que naquela época não eram de uso generalizado nos meios rurais. Desde 1904 solicita do Govêrno do Estado providências para que seja concedido transporte gratuito para as serpentes enviadas ao Instituto Butantan. Insiste sempre nesse serviço de permuta pois necessita das serpentes a fim de obter venenos para os trabalhos experimentais, a imunização dos cavalos que produzem os soros antiofídicos e ainda vão constituir material para os trabalhos de classificação e achados de novas espécies de serpentes, em que estão empenhados novos assistentes, como João Florêncio Gomes. Em 1911 providencia para que o Govêrno do Estado faça o Instituto Butantan ser representado na Exposição Internacional de Higiene de Dresde na Alemanha por Bruno Rangel Pestana e o Dr. Ataliba Florence, êste último então presente naquela cidade.

Êsse trabalho de divulgação em todos os setores, e as maneiras práticas que nele emprega fazem com que Vital Brazil consiga criar um movimento que não tinha e ainda não tem paralelo em todo o mundo na campanha da luta contra os animais peçonhentos. O Instituto Butantan, ao lado de suas numerosas atividades de pesquisa científica, nos mais diversos campos da Medicina Experimental e na produção de produtos biológicos para a Saúde Pública, sempre manteve o que foi criado por Vital Brazil, e atualmente vem ativando muito, tanto os estudos de venenos como também a assistência direta aos picados por animais peçonhentos que agora é dada no seu setor denominado Hospital Vital Brazil inaugurado em 12-11-1945 com a presença do seu patrono. O Hospital Vital Brazil foi instalado em nôvo pavilhão a 8-1-1954.

Pela leitura de seus trabalhos verifica-se que opiniões, conceitos e afirmações que neles se encontram são sempre fruto de numerosas experiências de laboratório, muitas vêzes apenas referidas, daí pensarem muitos que Vital Brazil só deve o seu prestígio às suas atividades como fundador do Instituto Butantan e descobridor da especificidade dos soros anti-venenos.

Pelo pequeno sumário de uma parte dos trabalhos de Vital Brazil pode-se fazer uma apreciação de seu valor científico e de sua atividade incansável pois em todos os assuntos sôbre veneno e envenenamento por animais peçonhentos estudou e experimentou, criando um grande cabedal de conhecimentos que compreendeu, organizou e difundiu.

Referências

1. *Calmette, A.* — Proprieté du serum des animaux immunisé contre le venin des serpents; therapeutique de l'envenimation. *C. rend. Acad. Sc.*, **118**:720-722, 1894.

2. *Phisalix, M.* — Animaux venimeux et venins. Masson, Vol. II, p. 768, 1922.

3. *Brazil, V.* — Contribuição ao estudo do veneno ophidico. III. Tratamento das mordeduras de cobra. *Rev. Med. S. Paulo*, 4:375, 1901.

4. *Brazil, V.* — Do envenenamento ophidico e seu tratamento. Conferência realizada em 1-12-1901. Coletânea Trab. Inst. Butantan, **1**:31-55, (1901-1917), 1918.

5. *Instituto Butantan* — Relatório das atividades. Volumes de 1901 a 1912.

6. *Brazil, V.* — Dosagem do valor antitóxico dos serums anti-peçonhentos. *Rev. Med. S. Paulo*, **10**:457-462, 1907.

7. *Brazil, V.* — La Défense contre l'ophidisme. Pocai-Weiss & Cia., S. Paulo, 1914.

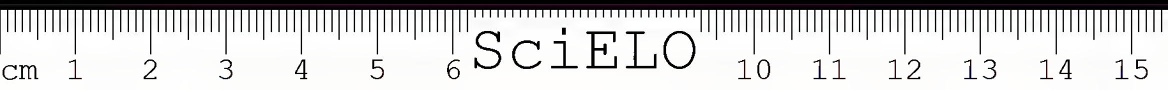
8. *Brasil, V.* — Duração da atividade anti-tóxica dos soros (1916). Colet. Trab. Inst. Butantan, 1:297-309, (1901-1917), 1918.

9. *Brazil, V.* — Das pseudo-globulinas específicas dos soros (antitoxinas), 1916. Colet. Trab. Inst. Butantan, 1:351-366, (1901-1917), 1018.

10. *Brazil, V.* e *Rangel Pestana, B.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophídico, (1909). Colet. Trab. Inst. Butantan, 1:149-193, (1901-1917), 1918.

11. *Brazil, V.* — Das globulinas e serinas dos serums anti-tóxicos (1907). Colet. Trab. Inst. Butantan, 1:135-149, (1901-1917), 1918.

12. X: Crônicas e Notícias. *Brasil-Médico,* **18**:42, 1904.



Mem. Inst. Butantan,
34:1-7, 1969.

BIBLIOGRAFIA DOS TRABALHOS DO DR. VITAL BRAZIL

(28-4-1865/8-5-1950)

EVA M. A. KELEN

Seção de Fisiopatologia Experimental, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Não tendo sido encontrada nenhuma relação bibliográfica completa dos trabalhos publicados pelo Dr. Vital Brazil, foi feita uma pesquisa bibliográfica cuidadosa e laboriosa, consultando cada artigo ou monografia. Esta tarefa não foi sempre fácil pois, muitas vêzes, deparamos com êrros de referência ou com referências incompletas, o que dificultou a localização do artigo. A própria relação de trabalhos citada pelo Dr. Vital Brazil na "Memória Histórica do Instituto Butantan" (1941) não reune todos seus trabalhos nem os coloca por uma ordem cronológica.

Dada a importância que representa a contribuição científica do Dr. Vital Brazil, principalmente no que se refere ao estudo do ofidismo e dos venenos, onde estabeleceu conceitos, muitos dos quais até hoje utilizados, e apresentou informações valiosas para as atuais pesquisas no assunto, é oportuno e útil que se tenha uma fonte de referências correta, feita de maneira sistemática dentro da ordem cronológica de publicação. Trata-se de mais uma homenagem em comemoração ao Centenário do Nascimento do ilustre Cientista.

Veneno e Tratamento

Brazil, V. — Estudos experimentaes sobre o preparado denominado Salva-vidas, preconisado contra as mordeduras de cobras e outros animaes venenosos, *Rev. med. S. Paulo,* 1:139-141, 1898.

Brazil, V. — Resposta ao Dr. Mamede Rocha, *Rev. Med. S. Paulo,* 4:449, 1901.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; I. Espécies venenosas brasileiras. Mortalidade por mordeduras de cobras, *Rev. med. S. Paulo,* 4: 255-260, 1901. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:1-12 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; II. O veneno de algumas espécies brazileiras, *Rev. med. S. Paulo,* 4:296-300, 1901. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:12-20 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; III. Tratamento das mordeduras de cobra, *Rev. med. S. Paulo,* 4:375-380, 1901. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:20-30 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Do envenenamento ophidico e seu tratamento. Conferência em 1-12-1901 na Escola de Farmácia, S. Paulo, Typ. Diario Official, 1902, pp. 3-29. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, 1:31-35 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Envenenamento ophidico e seu tratamento. Resumo da conferência em 20-9-1902 na Escola Polytechnica de S. Paulo, *em*: "Trabalhos sobre Ofiologia pelo Dr. Vital Brazil", 1900-1925, Diario Official, S. Paulo.

Brazil, V. — Resumo das experiências sôbre os venenos crotálico e bothropico realizadas em 18 e 20-9-1902 na Escola Polytechnica de S. Paulo, *em*: "Trabalhos sôbre Ofiologia pelo Dr. Vital Brazil", 1900-1925, Diario Official, S. Paulo.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; III. Tratamento das mordeduras de cobra, *Rev. med. S. Paulo,* **5**:22-25, 1902.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do veneno ophidico; III. Tratamento das mordeduras de cobra, *Rev. med. S. Paulo,* **6**:265-278, 1903.

Brazil, V. — Appareil compressif du caillot pour augmenter la production du sérum, *Rev. med. S. Paulo,* **6**:476-477, 1903.

Brazil, V. — Serum anti-ophidico, *Brazil-Médico*, **17**:384-385, 1903. *Ibid*: J.A.M.A., **41**:504, 1903.

Brazil, V. — Serum anti-ophidico, Quinto Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia (Rio de Janeiro, 16-6 a 2-7 1903), Typ. Besnard frères, Rio de Janeiro, Vol. I, 1904, pp. 198-201.

Brazil, V. — Da Serumtherapia no envenenamento ophidico, Quinto Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia (Rio de Janeiro, 16-6 a 2-7 1903), Typ. Besnard frères, Rio de Janeiro, Vol. II, 1904, pp. 145-169.

Brazil, V. — Contribution à l'étude de l'intoxication d'origine ophidienne, Paris, Maloine ed., 1904.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do ophidismo, Typ. Porto Medico, Porto, 1904, pp. 3-25.

Brazil, V. — Da Serumtherapia no envenenamento ophidico, *Brazil-Medico*, **18**:21-31, 1904.

Brazil, V. — Da Serumtherapia no envenenamento ophidico, *Brazil-Médico*, **18**:31-38, 1904.

Brazil, V. — Sôbre um novo tratamento organo-therápico do ophidismo do Dr. Ernst von Bassewitz, *Rev. med. S. Paulo,* **7**:25-26, 1904.

Brazil, V. — A propósito de uma observação do Dr. Z. de Alvarenga sôbre o emprêgo do sôro anti-ophidico, *Rev. med. S. Paulo*, **8**:150-152, 1905.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do ophidismo; I e II, *Impr. Med. S. Paulo,* **13**: 241-247, 1905.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do ophidismo; III, *Impr. med. S. Paulo,* **13**: 261-268, 1905.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do ophidismo (conclusão), *Impr. med. S. Paulo,* **13**:281-287, 1905.

Brazil, V. — O ophidismo no Brazil, *Brazil-Medico,* **20**:7-8, 1906.

Brazil, V. — Tratamento de mordeduras de cobra pelos seruns especificos preparados no Instituto Serumtherápico do Estado, *Rev. med. S. Paulo,* **9**:408-412, 1906.



Brazil, V. — A serumtherapia do ophidismo em relação à distribuição geographica das serpentes. Espécies venenosas americanas. *Rev. med. S. Paulo,* **10**:196-201, 1907. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:109-117 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Das globulinas e serinas dos seruns anti-toxicos, *Rev. med. S. Paulo,* **10**:368-373, 1907. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**: 137-148 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do envenenamento pela picada do escorpião e seu tratamento. *Rev. med. S. Paulo*, **10**:385-390, 1907. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:69-81 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Dosagem do valor anti-tóxico dos seruns antipeçonhentos, *Rev. med. S. Paulo*, **10**:457-462, 1907. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:121-133, (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Do anhydrido carbônico como meio conservador dos séruns e das toxinas, *Rev. med. S. Paulo*, 471-473, 1907.

Brazil, V. — Dosagem do valor anti-toxico dos seruns anti-peçonhentos, *Tribuna Medica* (Rio), **14**:39-44, 1908.

Brazil, V. — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo,* **17**:17-21, 1909.

Brazil, V. — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo,* **17**:35-44, 1909.

Brazil, V. — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo,* **17**:52-58, 1909.

Brazil, V. — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo,* **17**:65-71, 1909.

Brazil, V. — As cobras venenosas e o tratamento especifico do ophidismo, *Impr. med. S. Paulo,* **17**:87-93, 1909.

Brazil, V. — Dosagem do valor anti-tóxico dos seruns anti-peçonhentos, (Memória apresentada ao VI Congresso Brazileiro de Medicina e Cirurgia). Typ. Diario Official. S. Paulo, 1909, 21 pp.

Brazil, V. — Das globulinas e serinas dos seruns anti-toxicos, (Memória apresentada ao VI Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia), Typ. Diario Official, S. Paulo, 1909, 20 pp.

Brazil, V. — Serumtherapia anti-ophidica, *Rev. med. S. Paulo,* **12**:293-307, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:197-229 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Serumtherapia anti-ophidica; I. Considerações geraes, *Tribuna Medica* (Rio), **15**:287-293, 1909.

Brazil, V. — Serumtherapia anti-ophidica; II. Algumas peçonhas de especies brasileiras, *Tribuna Medica* (Rio), **15**:310-313, 1909.

Brazil, V. e *Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; I, II, III, IV, *Rev. med. S. Paulo,* **12**:375-379, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:151-160 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. e *Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; V. Acção physiologica, *Rev. med. S. Paulo,* **12**:415-425, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:160-183 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. e *Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; VI. Acção coagulante, *Rev. med. S. Paulo,* **12**:439-442, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:183--189 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. e *Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; VII. Acção proteolitica, *Rev. med. S. Paulo,* **12**:442-444, 1909. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:189-193, (1901-1917), 1918.

Brazil, V. e *Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; VIII. Hemolise, *Rev. med. S. Paulo,* **13**:61-64, 1910.

Brazil, V. e *Pestana, B. R.* — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico; IX. Ação neutralizante e precipitante especificas dos seruns anti-peçonhentos sôbre os venenos, *Rev. med. S. Paulo,* **13**:161-164, 1910.

Brazil, V. — Serumtherapia anti-ophidica, *Tribuna Medica (Rio)* **16**:9-12, 1910.

Brazil, V. — Serumtherapia anti-ophidica, *Brazil-Medico,* **24**:353-357 1910.

Brazil, V. — Serumtherapia anti-ophidica, *Brazil Médico,* **24**:363-365, 1910.

Brazil, V. — Serumtherapia anti-ophidica, *Brazil-Medico,* **24**:373-376, 1910.

Brazil, V. — Serumtherapia anti-ophidica, *Brazil-Medico,* **24**:383-386, 1910.

Brazil, V. — *Rachidelus brazili*: espécie ophióphaga. Seu papel na destruição das cobras venenosas, *Rev. Soc. Cientifica S. Paulo,* **5**:1-5, 1910.

Brazil, V. — Therapêutica do ophidismo, *Rev. med. S. Paulo,* **14**:164-174, 1911.

Brazil, V. — A defesa contra o ophidismo, Pocai & Weiss, S. Paulo, 1911, 152 pp.

Brazil, V. — La défense contre l'ophidisme, Pocai & Weiss, S. Paulo, 1.º ed., 1911, 181 pp.

Brazil, V. — La défense contre l'ophidisme (trad. franc. do Dr. J. Maibon), Pocai Weiss & Co., S. Paulo, 2.º ed., 1914, 319 pp.

Brazil, V. e *Rocha, F. da* — Tratamento da epilepsia, *Anais paul. med. cir.,* **5**: 321-330, 1915.

Brazil, V. — Das pseudo-globulinas especificas dos soros (anti-toxinas). Seu preparo e seu emprego em therapeutica, 1.º Congresso Paulista de Medicina, S. Paulo (1916), **2**:255-267, 1917. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:351-366 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Duração da atividade anti-toxica dos soros, 1.º Congresso Paulista de Medicina, S. Paulo (1916). **2**:215-225, 1917. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:297-309 (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Soro anti-escorpionico, *Mem. Inst. Butantan,* **1**:47-52, 1918.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. Aranhas inimigas das serpentes. Gênero *Grammostola, Brazil-Medico,* **39** (1.º s.): 47-51, 1925.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das glândulas das serpentes aglyphas, *Brazil-Medico,* **39** (1.º s.):95-98, 1925. *Ibid*: *An. paul. med. cir.,* **60**:463-470, 1950.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno de Batrachios do gênero *Bufo. Brazil-Medico,* **39** (1.º s.):175-180, 1925. *Ibid*: *An. paul. med. cir.,* **60**:525-553, 1950.

Brazil, V. e Vellard, J. — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. *Brazil-Medico,* **39**:(2.º s): 131-133, 1925.



Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. Imunização por via intradérmica e por via subcutânea. Sôro anti-ctenus. Método de dosagem e primeira aplicação no homem, *Brazil-Medico*, **39** (2.º s.):224-227, 1925. *Ibid*: *An. paul. med. cir.*, **60**:555-563, 1950.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. Sôro contra o veneno da *Lycosa raptoria*. Método de dosagem, *Brazil-Medico*, **39** 2.º s.):249-251, 1925. *Ibid*: *An. paul. med. cir.*, **60**:473-479, 1950.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas, *Mem. Inst. Butantan*, **2**:5-77, 1925.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo dos batrachios, *Mem. Inst. Butantan*, **3**:7-70, 1926.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas (2.º memória), *Mem. Inst. Butantan*, **3**:243-299, 1926.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo das glândulas das serpentes aglyphas, *Mem. Inst. Butantan*, **3**:301-325, 1926.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo da coagulação e da proteolyse; I. Acção coagulante e proteolytica dos venenos. *Brazil-Medico*, **40** (1.º s.): 239-243, 1926.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo da coagulação; II. Acção coagulante dos soros normaes e coaguabilidade dos plasmas correspondentes na série animal, *Bol. Inst. Bras. Sciencias*, **2**:195-213, 1926.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo da coagulação; III. Modificação do plasma e do sôro sob a influência do processo de immunização, *Rev. biol. hyg. S. Paulo*, **1**:5-16, 1927.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — A coagulação sanguinea, *Brazil-Medico*, **41**:1247-1252, 1927.

Brazil, V. e *Vellard, J.* — Immunidade anti-toxica experimental por via oral e por via nasal, *Brazil-Medico*, **41**:1311-1318, 1927. *Ibid*: *An. paul. med. cir.*, **60**: 565-579, 1950.

Brazil, V. et *Vellard, J.* — Action coagulante et anticoagulante des venins, *Ann. Inst. Pasteur*, **42**:403-451, 1928. *Ibid*: *An. paul. med. cir.*, **60**:481-523, 1950.

Brazil, V. et *Vellard, J.* — Action coagulante et anticoagulante des sérums. Coagulabilité des plasmas normaux, *Ann. Inst. Pasteur*, **42**:907-944, 1928.

Brazil, V. und *Vellard, J.* — Das Gift der brasilianischen Spinnen, *Seuchenbekämpfung*, **7**:12-22, 1930.

Brazil, V. und *Vellard, J.* — Das Gift der brasilianischen Spinnen, *Seuchenbekämpfung*, **7**:96-111, 1930.

Brazil, V. und *Vellard, J.* — Das Gift der brasilianischen Spinnen, *Seuchenbekämpfung*, **7**:158-176, 1930.

Brazil, V. e *Brazil Filho, V.* — Do envenenamento elapineo em confronto com o choque anaphylactico, *Ann. paul. med. cir.*, **25**:185-210, 1933.

Brazil, V. e *Brazil Filho, V.* — Do envenenamento elapineo em confronto com o choque anaphylactico, *Ann. paul. med. cir.*, **25**:295-322, 1933.

Brazil, V. e *Brazil Filho, V.* — Do envenenamento elapineo em confronto com o choque anaphylactico, *Boletim do Inst. Vital Brazil*, **15**:3-49, 1933. *Ibid*: *An. paul. med. cir.*, **60**:411-461, 1950.

Brazil, V. — Do emprêgo da peçonha em terapeutica, *Biologia Medica* (1):7-21, 1934. *Ibid.*: *An. paul. med. cir.*, **60**:389-400, 1950.

Brazil, V. — Do emprêgo da peçonha em terapêutica, *Biologia Medica* (2):50-62, 1934. *Ibid: An. paul. med. cir.*, **60**:400-408, 1950.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do ofidismo. *Biologia Medica* (13):3-27, 1938.

Brazil, V. — Considerações gerais sôbre a biologia dos animais peçonhentos, *Proc. VIIIth American Scientific Congress* (Washington, 1940), Vol. III, Department of State, Washington, 1941, pp. 311-322.

Brazil, V. — Considerações gerais sôbre a biologia dos animais peçonhentos, *Biologia Medica* **7**(15): 3, 1944.

Assuntos Diversos

Brazil, V. — Fisiologia do baço, Tese de doutoramento, Fac. de Medicina, Rio de Janeiro, 1891.

Brazil, V. — Relatório apresentado a Diretoria do Serviço Sanitário sôbre a febre amarela em Belém do Descalvado, 1894.

Brazil, V. — Um caso de abcesso dysenterico do figado, *Rev. med. S. Paulo* **1**:6-8, 1898.

Brazil, V. — Alguns casos de diphteria tratados pelo serum anti-diphterico, *Rev. med. S. Paulo*, **1**:51-56, 1898.

Brazil, V. — A serumtherapia na febre amarella, *Rev. med. S. Paulo*, **1**:127-131, 1898.

Brazil, V. — A peste bubônica em Santos, *Rev. med. S. Paulo*, **2**:343-354, 1898.

Brazil, V. — A peste bubônica em Santos, Relatório do Inst. Bacteriológico de S. Paulo, Escola Typ. Salesiana, S. Paulo 1900, 49 pp.

Brazil, V. — Mal de cadeiras em S. Paulo, *Rev. med. S. Paulo*, **10**:2-4, 1907. *Ibid*: Collectanea de Trabalhos do Instituto Butantan, **1**:57-62, (1901-1917), 1918.

Brazil, V. — Mal de cadeiras, Typ. Diario Official, S. Paulo, 1909, 8 pp.

Brazil, V. — Notas sobre a biologia do *Conepatus chilensis*. Contribuição ao estudo do seu apparelho defensivo, *Arch. Inst. Vital Brazil*, **2**:57-67, 1924. *Ibid*: *Biologia Médica* (10):3-16, 1937.

Brazil, V. — A defeza contra a mosca, *Mem. Inst. Butantan*, **3**:189-203, 1926.

Brazil, V. — A defeza contra a mosca, *Ann. III Congresso Bras. hyg.* (1926), São Paulo Editôra Ltda., S. Paulo, 1929, pp. 3-14.

Brasil, V. e *Vellard, J.* — Do papel dos lipoides em immunologia, Funcção fixadora e capacidade modificadora dos lipoides. Vaccinas lipoidicas, *Ciência Médica*, **5**:419-434, 1927.

Brasil, V. e *Vellard, J.* — Do papel dos lipoides em immunologia, Funcção fixadora e capacidade modificadora dos lipoides. Vaccinas lipoidicas, *Brazil-Medico*, **41**:743-751, 1927.

Brazil, V. e *Braga, A.* — Da importância dos lipoides no preparo da vaccina contra o carbúnculo hemático, *Boletim do Inst. Vital Brazil*, (17): 21 pp. 1935.

Outros Artigos

Brazil, V. — João Florêncio de Salles Gomes (†), *Ann. paul. med. cir.*, **10**:122-124, 1919.



Brazil, V. — Emilio Ribas, *Arch. hyg. S. Pub. S. Paulo,* **1**:7-12, 1936.

Brazil, V. — Recordando..., *Mem. Inst. Butantan,* **14**:IX-XII, 1940.

Brazil, V. — Memoria Historica do Instituto Butantan, E. Pocai, S. Paulo, 1941, 170 pp.

Brazil, V. — Autobiografia, Discurso no Rotary Club de Niteroi em 19-11-1942, *Ann. paul. med. cir.,* **60**:339-345, 1950.

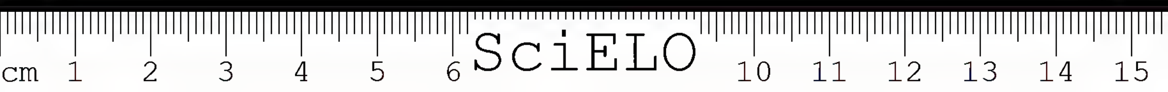
Brazil, V. — Jubileu de Formatura, Discurso em 16-1-1942, *An. paul. med. cir.,* **60**: 581-582, 1950.

Brazil, V. — Discurso na Cerimônia da inauguração do novo edificio do Instituto Vital Brazil em 11-9-1943, *Biologia Medica* (4):14-24, 1943.

Brazil, V. — História de uma instituição, Discurso em 11-9-1943, inauguração do nôvo edifício do Inst. Vital Brazil, *An. paul. med. cir.,* **60**:585-594, 1950.

Brazil, V. — Algumas notas autobiográficas, (postumo), *Pinheiros Terapêutico,* **17**: 12-19, 1965.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

Mem. Inst. Butantan,
34:9-24, 1969.

ESCORPIONISMO NO BRASIL *

WOLFGANG BÜCHERL **

Freqüência do Escorpião

Durante o decênio de 1956 a 1966 recebia o Instituto Butantan 256.721 *Tityus serrulatus* e 30.920 *T. bahiensis.* Estas quantidades atestam, sem sombra de dúvida, de que ainda hoje existem escorpiões perigosos em grande quantidade. Ainda em 1968, no mês de outubro, houve um recrudescimento na freqüência de *T. serrulatus* em certos bairros de Belo Horizonte, cidade nova, mas construída sôbre solo "escorpionífero". Os principais locais de procedência dos escorpiões recebidos são: Nova Era, bairros de Belo Horizonte, Monlevade, arredores de Ribeirão Prêto, Teofilo Otoni, Santana de Ferros, São Miguel e Porto de Guanhães, Conceição do Serro, Serro, São José da Lagoa, Ponte Nova, Sabará, Aparecida do Norte, Serra Negra, algumas fazendas a cêrca de 20 km de Campinas, um foco circumserito em Osasco, Roseira, Bom Jesus do Galho, Goiás. Goiânia — *T. serrulatus,* Ouro Prêto, Capital de São Paulo (Morumbí, ao longo do canal de Pinheiros, cemitérios de São Paulo, Lapa, da Av. Dr. Arnaldo, Pacaembú, Pacaembuzinho, alguns trechos das Alamedas Lorena, Santos, Tietê, Casa Verde, Sant'Ana, Santo Amaro, principalmente), Judiaí, Campinas, Sorocaba, Mogi das Cruzes, Taubaté, Aparecida (associado com focos de *T. serrulatus*), Pindamonhangaba, Botucatú, Baurú, Lençois, etc., — *T. bahiensis.*

O Instituto Ezequiel Dias, até 1.º de agôsto de 1923 tinha recebido da população de Belo Horizonte cêrca de 120.000 *serrulatus* (Magalhães, 1928); um número ainda mais avultado foi capturado no período de 1929 a 1950; Lopes da Silva, dirigindo o expurgo da cidade de Ribeirão Prêto, indica 5.358 *serrulatus,* capturados naquela cidade nos anos de 1948, até maio de 1950. 2.156 foram capturados na mesma cidade, sòmente nos meses de junho e julho de 1950. Segundo o relatório de Baerg, em 1961, foram capturados vivos em *Durango,* México, nos meses de abril, maio e junho de 1865 cêrca de 80.000 a 100.000 *C. suffusus,* e em 1925 nada menos de 116.000 — o que demonstra insofismàvelmente que é extremamente difícil erradicar-se êste mal.

Freqüência dos Acidentes humanos

Número de acidentes — Embora os escorpiões só picassem em defesa própria, quando tocados fortuitamente, pode estabelecer-se, contudo, uma relação entre a freqüência numérica e o número de acidentes humanos. O "escorpionismo" ainda constitui assunto médico-sanitário de enorme importância para populações urba-

---

* Apresentado, em 6 de março de 1969, no Forum Científico da Academia de Medicina de São Paulo.

** Ex-chefe da Secção de Artropodos Peçonhentos; bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

nas de certas cidades. Cremos que ainda hoje devam ocorrer cêrca de 6.000 acidentes, anualmente, como calculou Magalhães em 1946.

A estatística do Hospital "Vital Brazil" do Instituto Butantan, a nós gentilmente cedida por G. Rosenfeld, médico chefe daquela Instituição, dá para os anos de 1954 até 1965 nada menos 1.279 acidentes por picada de escorpião, sendo 701 por *bahiensis* (São Paulo e arredores são zona de *T. bahiensis*), 36 por *serrulatus*, 534 por escorpiões não identificados e mais 6 por *Bothriurus*.

O. Magalhães registrou em 1946, 2.529 acidentes em Belo Horizonte, M.G.. O mesmo autor dá em 1938, um relatório de Sebastião Santos, de São João del Rei (citado também por V. Brazil, em 1907) segundo o qual verificaram-se até 1905, naquela cidade, 981 acidentes. O mesmo Magalhães registrou aeidentes, em 1938, em Minas Gerais nas cidades de Teofilo Otoni, Antonio Dias, Mariana, Tauna, Itabira, Bom Despacho, São Gonçalo Rio Abaixo, Sant'Ana de Ferros, São José da Lagôa, Ponte Nova, Taboca, Nova Lima, Sabará, Conceição do Serro, São Miguel de Guanhães, Pôrto de Guanhães, Rio Casca, Serro, Santa Barbara e Santa Luzia.

No relatório de Tito Lopes da Silva lemos 985 acidentes para Ribeirão Prêto, SP, nos anos de 1945 a 1950 e no relatório do Pronto Socorro Municipal, a nós gentilmente cedido pelo Dr. Chiarello, então médico chefe, foram atendidos 393 acidentados, em 1951/52.

Em outras regiões tropicais e sub tropicais as estatísticas de acidentes se perfilam com as do Brasil: Stahnke, H. L., em 1956, relata 1.573 acidentes, ocorridos num período de 10 meses no Arizona (USA); centenas de acidentes são referidos nas publicações de E. Sergent, verificados anualmente em Algier, Marrocos, Tunis; Waterman, J. A., em 1957, dá 698 acidentes, ocorridos em Trinidad, nos anos de 1929 a 1933 e W. J. Baerg, em 1961, registrou no México 1.143 acidentes, ocorridos em 1953, principalmente em Durango, Nayarit, Guerrero, Colima e na própria cidade do México.

Acidentes perigosos verificam-se também em Israel (Shulow), no Egito (Todd) e na África do Sul (Grasset, Schaafsma e Hodgson, 1946). Na Índia, acidentes de extrema gravidade não costumam ocorrer (Basu, 1939), também não na região Filipino-Malasia (Keegan).

Região do corpo mais atingida

Temos estatísticas do Instituto Butantan, de Magalhães (Ambulatório do Instituto Ezequiel Dias e do Pronto Socorro Policial de Belo Horizonte) e do dr. Chiarello do Pronto Socorro Municipal de Ribeirão Prêto, SP. Segundo a última, que concorda surpreendentemente com as de Minas Gerais, verificam-se cêrca de 57% das picadas nas *mãos* (que, nos afazeres da casa, tocam involuntàriamente no escorpião), cêrca de 7% nos braços, quasi 18% nos pés, principalmente ao vestir o calçado, 3,5% nas pernas até a coxa e apenas cêrca de 14,4% em outras partes do corpo (ao vestir camisa, calça, paletó, etc..). Portanto, cêrca de 65% das picadas se dão nas mãos e nos braços e 21% nos pés e nas pernas! (Total de acidentes — 393, tratados no Pronto Socorro Municipal de Ribeirão Prêto, 1951/52).

Local do acidente

122 nos *quintais e jardins das casas residenciais*: sob tijolos empilhados e remexidos (59), sob madeiramente (17), sob a lenha a secar (14), sob telhas, ladrilhos (15), em garagens (2), ao cortar a grama (2), em barricas (2), em

vasilhames e embrulhos abandonados (2), nas vigas do telhado (1), sob fôlhas de zinco (1), em casos de plantas (1), em cisternas (3), no tanque de lavar roupa (2), em cerca de bambú (1).

57 na *limpesa de salas, quartos, dispensas*: ao remover móveis, quadros, tapetes, cortinas (11), limpesa de quartos (18), sob assoalho solto (4), em malas e baús mal fechados (3), portas, portões e fendas de muros (4), em garrafas abandonadas (2), em feixes de roupa (4), em utensílios guardados em porão (3), pondo a mão sob mesas (2), na copa (2), no quarto de despejo (1), sentando numa cadeira (1), fechando a veneziana (2).

43 nos *dormitórios*: na cama (31), na roupa de cama (4), em guarda-roupa (8).

43 *nas lides na cozinha*: na lenha (21), no interior de fogões à lenha (6), em panos de prato e de chão (4), nos vasilhames de lixo (3), em sacos de limpesa (2), no guarda-comida (4), em um cacho de bananas (1), nas dobras de um pacote de açúcar (1), sob palha (1).

30 Dentro de *peças do vestuário*: em calçado (12), tamancos (2), no paletó (2), ao vestir as calças (6), no pijama (3), no casacão (2), no vestido (1), no capote (1), na camisa (1).

23 em *banheiros e lavatórios*: privadas (12), utensílios de limpesa, vasilhames, ralos (6), em cestas de roupa (3), sob toalha (1), na torneira (1).

5 Em *outros objetos* de uso na casa: Dentro de guarda-chuva (2), em ferro de passar (1), numa barca (1), em atelier fotográfico (1).

7 Sôbre *veículos*: em autos de passeio (2), carroça (1), caminhonete (1), caminhão de lenha (2), vagão de lenha (1).

Fora do recinto das casas residenciais, são mais sujeitos a serem picados os que trabalham em: serrarias e marcenarias ou depósitos de madeira (9 acidentes), os que lidam com tijolos em construções (17), os que trabalham em remoção de terra (8), em olarias, em pedreiras ou marmorarias (11), em livrarias (3), em lenha empilhada no mato (4). Em cemitério houve 1 acidente, em matagal 1, nas vias públicas 6, na estrada 1, em buracos de barrancos 2. Apenas 63 acidentes fora de casa e 330 dentro de casa.

Veneno escorpiônico

O escorpião emprega sua peçonha para *subjugar* e *imobilizar ràpidamente* a sua presa que lhe serve de alimento: baratas, grilos, aranhas de médio porte que não emitem fios. É importante anotar os termos: "imobilizar ràpidamente". A peçonha é inoculada pelo dardo agudo; a presa é apreendida pelas duas mãos por meio dos dedos preenseis, munidos de grânulos tão minúsculos que conseguem arrancar cabelos humanos, a presa apreendida é então suspensa, diante da cabeça do escorpião — e o dardo venenífero é dobrado ràpidamente para a frente por sôbre o dorso e a cabeça, encravando-se sua ponta na vítima "*de traz para diante*". A peçonha escorpiônica, ao que fazem supor as observações biológicas, não tem, pois, função digestiva, mas é, antes de tudo "*ofensiva*", *paralizante*.

Máximas e médias de peçonha sêca por escorpião (eletrochoque). Bücherl I

T. serrulatus — 4 mg e 0,23 a 1,1 mg valores máximos e médios

T. bahiensis — 4 mg e 0,20 a 0,9 mg

LD 50 por g de camundongo: vias venosa e subcut. Bücherl 2

T. serrulatus — 0,6 gamas e 0,65 gamas

T. bahiensis — 0,75 gamas e 1,35 gamas

Na intoxicação experimental de animais de laboratório (camundongo, cobaio, coelho, pombo), surge a manifestação imediata dos sintomas locais, a dôr nunca falta (um camundongo despedaçou com os dentes a própria pata (O. Magalhães 1935); há hipersecreção das glândulas e mucosas (V. Brazil); a toxina é ràpidamente neutralizada ou eliminada; nas intoxicações mais graves há atonia dos membros e finalmente paralisia (Maurano, 1915); ataca as terminações nervosas da região picada e dos nervos próximos o que se traduz pela dôr. A dôr é devida à peçonha inoculada e não à ação perfurante do dardo. J. de Bellesme fechou os dois orifícios de veneno com colódio; a picada não mais era dolorosa. Na fase tardia da intoxicação grave suspende-se totalmente a excitabilidade reflexa e inicia-se a paralisia medular, do vago, do accessório, do hipoglosso; morte por paralisia bulbar (Joyeux-Laffuie). Atua sôbre o músculo estriado, mas não como o curare (Talaat). Antes de tudo, ação seletiva sôbre a motricidade (O. Magalhães, 1928); 6.500 experiências com tôda a sorte de animais, para aferir a ação da peçonha (O. Magalhães, 1935); determina eriçamento dos pêlos no local da picada, principalmente, (Magalhães, 1938).

A toxina escorpiônica não é absorvida pela pele íntegra: polvos, peixes, embriões de rã não manifestam intoxicação alguma, quando se adiciona veneno escorpiônico à água de recipiente, em que vivem.

A toxina é inócua, quando ingerida: Caranguejos comiam quantidades de vesículas, que se lhes davam, sem intoxicação — Joyeux-Laffuie; Galináceos devoram escorpiões com avidês, também os saguís, os sapos (observações de Maurano, de nós também).

As primeiras gotículas, que afloram no fim do aguilhão, quando se segura um escorpião com pinça, são geralmente límpidas e transparentes, as posteriores branco-leitosas e viscosas. O pH é geralmente neutro ou pouco ácido. O veneno fresco, obtido por eletrochoque e dessecado a vácuo, forma palhetas esbranquiçadas; quando a peçonha fôr mais velha, torna-se amarelada, às vêzes com leve tonalidade para o verde. A peçonha pura não se dissolve completamente na água destilada nem no soluto fisiológico; resta sempre um fino precipitado, retido por simples filtro de papel. Segundo Wilson tem o veneno de *L. quinquestriatus* um peso específico em torno de 1.092, com 20,3% de sólidos, 8,4% de resíduos. O veneno é insolúvel em álcool absoluto, no éter; resiste ao clorofórmio e à glicerina; é sensível à amônea, ao iôdo, permanganato de potássio; atravessa a vela de Chamberland, mas muito mal a de Berkefeld; precipita-se sob adição de sulfato de amôneo ou por excesso de álcool (Maurano, 1915).

Enquanto que as descrições mais antigas sôbre a sintomatologia da intoxicação humana e as experiências laboratoriais das peçonhas acentuavam a grande semelhança, senão a identidade quase, do empeçonhamento escorpiônico do mundo inteiro, vieram os modernos métodos da bioquímica e da farmacologia a demonstrar que êstes sintomas comuns (contraturas musculares, dôr, irregularidades respiratórias progressivas levando em alguns casos à paralisia respiratória, a pilo-ereção, midriase, aumento da pressão, constrição laríngeal, sudorese, febre e frio, etc...) podiam ter mecanismos diferentes, conforme o gênero do escorpião e sua repartição pelo mundo. Atualmente, na América do Sul, no México, no sul dos E.U. da América, na África do Sul, na Argélia, em Israel, no Egito, no Sudão e na Índia, principalmente, estão em andamento intensivos estudos experimentais, bio-químicos e farmacológicos sôbre a peçonha escorpiônica. Todos parecem concordar sôbre a ação sôbre o sistema nervoso e as junções neuro-musculares. A todos os laboratórios, quasi, falta matéria prima em maior quantidade; as técnicas empregadas variam bastante.

Ação muscular: A injeção endovenosa de peçonha escorpiônica em cães, gatos, ratos e camundongos provoca imediatamente o aparecimento de caimbras e contraturas musculares generalizadas. Esta atividade origina-se na espinha e persiste após a secção do tronco cerebral ou a transsecção da espinha, mas desaparece completamente após a destruição da medula dorsal ou dos nervos motores. A peçonha ataca a região das placas terminais do músculo. Bloqueando-se a transmissão neuro-muscular pelo curare e injetando-se depois veneno escorpiônico intra-venoso, surge uma decurarização. Doses grandes de veneno, entretanto, produzem bloqueio completo da transmissão neuro-muscular, não mais neutralizável pelo curare ou a prostigmina, ficando, porém, preservadas as respostas musculares ao estímulo direto elétrico ou acetilcolínico. Em *resumo*, o efeito muscular do envenenamento escorpiônico é produzido por dois caminhos: um, o central, localizado na medula espinhal e o segundo periférico, sôbre as junções neuro-musculares. O veneno parece transpor as membranas excitáveis, alterando o equilíbrio iônico.

Efeitos respiratórios: A freqüência e a amplitude dos movimentos respiratórios são alterados, assemelhando-se, em intoxicações graves, ao ritmo do tipo de Cheyne-Stokes, até a paralisia final, de origem central. Obstruções bronquiolares, secreção abundante, contrações dos musculos laríngeos e bronquiolares contribuem ao surgimento da paralisia respiratória, mas não são a causa da asfixia. A origem central pode ser comprovada, quando se injeta pequena quantidade de peçonha diretamente na cisterna magna, o que determina a paralisia respiratória imediata.

Efeitos cardio-vasculares: Há aumento inicial da pressão sangüínea, aliada à uma bradicardia; depois a pressão retorna aos níveis normais, mas, em intoxicações graves, continua caindo gradualmente até zero. O aumento inicial não é devido a uma ação periférica do veneno mas à sua ação sôbre os neurônios pre-sinápticos vaso-constrictores da medula, de um lado, e do outro, sôbre a liberação simultânea da epinefrina, também pelos estímulos dos neurônios pre-ganglionares da medula, que ativam as adrenais. A bradicardia corresponde igualmente à uma ação central. Desaparece após destruição da medula ou corte do vago. *Outros efeitos*: Midriase, pilo-ereção, sudorese, etc. são explicáveis igualmente pela ação central da peçonha sôbre os neurônios simpatéticos pre-ganglionares. (E. del Pozo, 1966).

As peçonhas de *T. serrulatus* e *bahiensis* são misturas de proteinas, principalmente de natureza básica e contém componentes tóxicos, uma componente estimuladora da musculatura lisa, uma componente que aumenta a permeabilidade capilar e hialuronidase. A componente tóxica é a *Scorpiotoxina T*, a substância ativa sôbre a musculatura lisa é a *Scorpiokinina*. (Diniz e Moura Gonçalves). 69% da peçonha do *T. bahiensis* são proteinas. Em 100 g de peçonha foi encontrada a seguinte composição de amino-ácidos: cistina 5,4 g; tirosina 4,6; valina 3,2; metionina 1,3; ácido asparagínico 7,1; ácido glutâminico 9,1; serina 4,3; glicocol 4,1; treonina 3,0; alanina 4,0; lisina 8,1; arginina 4,6; fenilalanina 5,5; isoleucina 3,3; leucina 4,7; prolina 5,8; histidina 1,3; triptofano 1,7: total 81,1 g. A peçonha consta de 6 frações, sendo 5 catódicas e 1 que migra para o anódio. A peçonha de *T. serrulatus* apresenta 7 frações proteínicas (eletroforese), 2 migrando para o anódio.

A bioquímica e principalmente aspectos farmacológicos das peçonhas de *T. serrulatus* e *bahiensis* estão sendo investigados no Instituto Butantan, em Belo Horizonte tanto no antigo Instituto Ezequiel Dias como na Faculdade de Medicina (Prof. Carlos Diniz e colaboradores), em Ribeirão Prêto (Prof. Moura-Gonçalves e colaboradores) e em Campinas (Prof. Oswaldo Vital Brazil e colaboradores), tendo êstes grupos contribuido com pesquisas importantes sôbre o assunto.

Sintomatologia dos picados

O acidente pela picada de escorpiões constitui obra do acaso. O ponto ou os pontos das picadas nem sempre são visíveis. Os acidentes costumam ser graduados em *leves, graves e mortais*, com tôda a gama possível de variantes. A peçonha age de imediato sôbre o sistema nervoso periférico, com paralisia siderante, de sua presa (baratas, grilos, pequenas aranhas, particularmente Licosas). Nos casos *leves* verifica-se calor local, onde penetrou o dardo, ligeiro rubor e dôr local, viva mas tolerável, amainando-se esta depois de algumas horas. O. de Magalhães fala em uma vaso-dilatação local.

Nos casos *graves* distingue o mesmo autor 2 fases: a primeira de *excitação* e *dôr*. A peçonha age sôbre as terminações nervosas. A dôr se irradia pelos troncos nervosos; torna-se muitas vêzes insuportável, vai dos dedos da mão à axila correspondente ou da ponta do pé à dobra inguinal; os capilares se constringem, não sendo impossível que vasos de calibre pequeno fiquem obstruídos. A vaso-constrição capilar periférica é generalizada e intensíssima, podendo perdurar entre 2 e cêrca de 6 horas. A fase posterior se inicia com vista escura, tonturas, sialorreia, rinorreia, náuseas, vômitos, cefaleias intensas, delírio brando, poliúria, dispneia bem pronunciada; finalmente segue-se um profundo abatimento e o início da paralisia. A esta altura os fenômenos locais são mínimos ou mesmo nulos. As extremidades são lívidas; o corpo inteiro está frio, embora muitas vêzes coberto de suores abundantes e frios. O que mata os inidivíduos é a lesão dos núcleos neuro-vegetativos do bulbo pela peçonha escorpiônica. Se o veneno impregna com o tempo outros centros, vegetativos ou não, do cérebro, do diencéfalo ou da medula, isto não invalida o quadro central, nìtidamente bulbar, da intoxicação escorpiônica.

Segundo V. Brazil, citado por Maurano, a dôr local, viva, intensa, lancinante, sempre presente já nos primeiros 10 minutos, parece não ser combatível com a vida. Há comprometimento dos gânglios linfáticos, faringite, dificuldade de deglutição, caimbras, espasmos musculares, salivação intensa, priapismo, respiração ofegante, intermitente; nos casos muito graves predominam os fenômenos respiratórios e nervosos: dispneia, cianose das mucosas, abolição dos movimentos espontâneos e reflexos, colapso, algidês, anúria, coma, asfixia por inibição do diafragma. Em casos benignos as crises costumam durar entre 3 e 8 horas.

Sôro anti-escorpiônico

Foi Vital Brazil e com ele o Instituto Butantan o primeiro no mundo a preocupar-se com o envenenamento pelo escorpião e seu tratamento; em 1905 começaram os estudos, em 1907 foi apresentado ao VI Congresso de Medicina e Cirurgia um trabalho sôbre a ação tóxica da peçonha escorpiônica em coelhos e cobaios e, eivado em suas experiências com a feitura dos sôros anti-ofídicos, conclui Brazil, ser possível imunizar-se um animal de grande porte desde que se tenha bastante antígeno. Em 1915, H. Maurano, sob a orientação de V. Brazil, imunizava o primeiro cavalo, injetando-lhe em cada 3º ou 4.º dia uma dose crescente de vesículas de *T. bahiensis*, até chegar na 15.ª injeção ao total de 394 vesículas. A imunização teve que ser interrompida por falta de "matéria-prima"; o sôro obtido tinha um título antitóxico baixo, neutralizando apenas 2 m.m. Em 1916 e 17, finalmente, fez-se no Instituto Butantan a imunização completa de um cavalo, produzindo-se assim a primeira partida do sôro anti-escorpiônico: cêrca de 1.500 vesículas foram injetadas num período de 3 meses e o sôro obtido neutralizava em cobaios 10 vesículas de escorpião por ml.

No mesmo ano, E. Villela tentava um anti-sôro no Instituto Ezequiel Dias em Belo Horizonte, aumentando O. de Magalhães a produção do mesmo nos anos de 1939/40, dosando 8 U. eamund. p. ml.

Soros anti-escorpiônicos são fabricados hoje no Brasil, México, nos EE.UU. da América, no Inst. Pasteur na Algeria, no Egito, em Israel, na África do Sul e na Índia.

A técnica já vinha desde Calmette: triturar os telsa cortados em água destilada, filtrar o macerado, evaporar o filtrado no vácuo, retomar o extrato sêco em água destilada mais glicerina. Todd, no Hygienic Institute de Cairo em 1906 secava os telsa ao sol, durante um a um dia e meio e os conservava depois em dessecadores sôbre cloreto de cálcio até o momento do uso. Moía então as vesículas em moinho de café, adicionava sol. fisiológico; passava a suspensão em agitador mecânico durante 1 a 2 horas; decantava o fluído opalescente e o clareava com sulfato de alumínio e água de cal; conservava esta "solução — mãe" a frio, em frasco fechado e com um pouco de clorofórmio. Maurano (e com ele o Instituto Butantan) triturava os telsa em sol. fis. ou dissolvia o veneno sêco nesta mesma mistura na proporção de 1 mg para 5 ou 10 ml de mistura.

Nós, durante os anos de 1956 a 1966 conseguimos obter por eletrochoque 138 g de peçonha sêca de 256.721 *serrulatus* e 15,500 g de peçonha sêca de *T. bahiensis* de 30.920 espccimens, sendo esta peçonha empregada no Instituto Butantan para titulação mais rigorosa do sôro e para a hiperimunisação de cavalos.

Tratamento

O. de Magalhães, após ter assistido a 2.449 acidentes em Belo Horizonte, no Pronto Socorro Policial, tendo aí observado 145 mortes, das quais 109 que não receberam sôro e 37 que receberam sôro, analizou de perto êstes últimos casos, chegando às seguintes conclusões: 9 vieram ao Pronto Socorro *tardiamente*, isto é, entre 5 e 23 horas depois do acidente; 8 outros picados receberam *insuficiência de dose de sôro* (apenas 10 ml) e por *via inadequada* (subcutânea), embora tivessem chegado já dentro de 1 h a 1 h e meia.

Em todos os acidentes graves deve ser dado o sôro, principalmente em zonas onde predomina o *T. serrulatus.* Menores de 15 anos são as maiores vítimas e a profissão doméstica é a mais prejudicada. O artrópodo se adapta perfeitamente ao domicílio; dentro do lar acontecem os acidentes.

Em casos graves, em crianças, decorridos já mais de uma hora entre o acidente e a injeção do sôro, êste deve ser dado *intravenosamente*, em doses generosas, até 50 ou 80 ml. A via *intra-raquiana* seria a decisiva, em muitas circunstâncias.

Combater a dôr, a hipotermia, a fase de prostração, se impõem. A intoxicação pelo *T. serrulatus*, sem sôro ou com sôro em quantidade insuficiente ou por via inadequada, leva com freqüência à morte. O tratamento, portanto, deve ser o mais ràpidamente possível. Isto exige que a população local receba instruções, que procure imediatamente o Posto de Saúde, sem perda de tempo; por outro lado, os médicos devem ter em estoque o sôro anti-escorpiônico, pelo menos um estoque mínimo de 10 ampôlas. O sôro deve ser instilado na veia, com tôdas as cautelas naturalmente e em quantidades tais que sejam neutralizados certamente pelo menos 3 a 4 mg de peçonha sêca.

O *T. bahiensis* (Ouro Prêto, Capital de São Paulo) não leva ou apenas excepcionalmente leva ao êxito letal. Em adulto dificilmente será necessário injetar-se sôro, em crianças de pouca idade pode ser necessário.

Resultados da Sôroterapia

Os autores são unânimes que, antes do advento da soroterapia anti-escorpiônica, a percentagem de mortalidade por picada pelos escorpiões ditos "perigosos" era muito elevada, principalmente em crianças até 5 ou 10 anos. Todd, p. ex., para um período entre 1901 a 1907, relatou as seguintes cifras de mortalidade para 7 cidades do Egito: *Cairo* 153 mortes, *Assouan* 63 mortes, *Henek* 46, *Sohag* 33, *Assiout* 87, *Minia* 15 e *Fayoum* 29 mortes; Bray, citado por Wilson, escreve que em 1902 morreram 21 crianças picadas, na cidade de *Omdurman*, tendo tido 5 menos de 1, 9 entre 1 a 5 e 7 entre 1 a 15 anos. Wilson afirma que *Leiurus quinquestriatus* chega a matar cêrca de 60% de crianças de menos de 5 anos e Cavaroz estima que 200 a 250 crianças eram mortas anualmente pelo *Centruroides suffusus* na cidade mexicana de *Durango*. Em 36 anos, a contar de 1891, verificaram-se em *Durango* 1.608 acidentes mortais, a maior parte em crianças de 1 a 6 anos (L. de la Peña e Venzor). Segundo Baerg ainda houve 28 mortes naquela cidade, em 1928; com o emprêgo do anti-sôro decresceu ràpidamente a cifra de mortes, até 7 em 1931; em 1953 receberam sôro 551, tendo havido apenas 3 mortes em um total de 1.143 picados. No *Arizona* verificaram-se 64 mortes num período de 1929 a 1948 e de 1949 a 1954 apenas 5 mortes por picada de *C. sculpturatus* e *gertschi* (soroterapia) num total de 1.573 acidentados. Em *Trinidad* houve, segundo a estatística de Waterman, no período de 1929 a 1933, 33 mortes, sendo 22 em crianças de 1 a 5 anos, 5 com 6 a 10 anos, 5 com 11 a 20 e 1 acima de 20 anos. Pelo cálculo do autor importava a percentagem de morte em crianças abaixo de 5 anos em cêrca de 25% das picadas e não tratadas pelo sôro. Em anos posteriores adotou aquele país o sôro anti-escorpiônico do Instituto Butantan, fazendo baixar sensìvelmente a percentagem de mortes.

O. de Magalhães calcula o número de mortes, anualmente, para o *Brasil* em 237; nos 2.449 picados e que não recebiam sôro houve 145 mortes; com o emprêgo da soroterapia decresceu a mortalidade para apenas 23 em 2.529 picados em Belo Horizonte, no período de 1939 a 1941. Dos 985 picados em Ribeirão Prêto por *T. serrulatus*, nos anos de 1945 a 1950 houve 64 casos graves que receberam o sôro do Instituto Butantan, tendo-se verificado apenas 7 mortes (1 criança de 3 meses, 1 de 9 meses, as restantes de 2-3-5-6 e 7 anos), o que prova a eficácia do anti-sôro feito pelo Inst. Butantan (Lopes da Silva). A estatística do Pronto Socorro Municipal daquela cidade, nos anos de 1951 e 52, demonstra ainda melhor a eficiência do sôro; 1951: 193 picados — 44 crianças — sôro nos casos graves = nenhuma morte; 1952: 206 picados — 49 crianças — apenas 1 morte. Estatística do Hospital Vital Brazil, Instituto Butantan, anos de 1954 a 1965 — 1.279 picados — casos graves recebiam sôro — nenhuma morte por *serrulatus* (o escorpião mais venenoso em nosso meio); 2 mortes por *T. bahiensis!* Constitui êste fato algo de insólito, pois quasi não se conhecem mortes por picada desta espécie. Mesmo assim — 2 mortes em 701 picados por esta espécie é mais uma prova de eficácia do sôro.

Profilaxia

a) *Inimigos naturais dos escorpiões*: Os próprios escorpiões, mesmo da mesma espécie, não se toleram fàcilmente, brigam pelo alimento, mães costumam muitas vêzes devorar os próprios filhotes, enquanto repousam sôbre suas costas; quando rareia o alimento, os mais fortes dominam e devoram os mais fracos. Quando, em uma cidade se encontram 2 ou mais espécies, como p.ex. em Belo Horizonte ou em

Ribeirão Prêto o *T. serrulatus* e *T. bahiensis* e o *B. magalhaensi*, o primeiro a desaparecer é o *Bothriurus*, depois começa a rarear o *bahiensis*, predominando finalmente apenas o *serrulatus*. Em Ouro Prêto, ao contrário e em São Paulo (Capital), predomina o *bahiensis*.

Pássaros, seriemas, corvos e principalmente as *galinhas*, armados de um bico corneo protetor, dão golpes certeiros nos escorpiões e os devoram com avidês. Em sítios e fazendas, as galinhas, ao ciscarem em volta das casas e dependências, eliminam muitos escorpiões.

Os sapos também não se intimidam. Embora picados com freqüência e sentindo o efeito da intoxicação, não desistem, enquanto não tiverem devorado o escorpião encontrado.

Maurano, em 1915, considera *pouco sensíveis* ao veneno os lagartos, ratos, gatos, as cobras e os próprios escorpiões, *muito sensíveis* as aranhas em geral, os cohaios, as lagostas e de *média sensibilidade* o homem, o cão, o cavalo, o gado vacum.

b) *Combate aos escorpiões por meio de inseticidas*: O DDT líquido a 30%, em solução final de 4%, dá resultados *satisfatórios;* o BHC em pó a 10%, tanto em suspensões aquosas de 0,5 g, 0,25 g e até de 0,13 g por metro quadrado (T. Lopes da Silva, 1950) dá resultados muito bons, quando se repetem pelo menos três aspersões do mesmo local, dentro de um ano (Bücherl, 1959: ensaios em São José dos Campos); o Rhodiatox, nas concentrações de 0,50 e 0,24% de tiofosfato, deve ser considerado igualmente um poderoso escorpionicida (L. G. Lordello, 1950). O. de Magalhães empregava o DDT em várias concentrações, em Belo Horizonte, em 1945 e achava, em publicações posteriores "que o escorpionismo era um problema vencido!"

Autores mexicanos, da África e de Israel concordam com as qualidades de qualquer um dos inseticidas de contato. Mas não há que iludir-se: em 1950, nos meses de junho e julho, o Serviço da Profilaxia da Malaria da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, sob a chefia do prof. T. Lopes da Silva, espargia DDT ou BHC em boeiros, muros externos e internos, em paredes, rodapés, nos porões, quintais, sôbre todo o entulho de 2.126 residências de Ribeirão Prêto, tendo-se gasto 2.129 kilos de BHC em 766.090 litros d'água e 200 l de DDT líquido em 32.500 l d'água. Os resultados foram impressionantes à primeira vista, mas ainda dois anos depois houve centenas de picados humanos naquela cidade.

A rigor deveriam as campanhas de erradicação com inseticidas de contato ser continuadas, de ano para ano, com vigilância contínua. Há os problemas da toxidês dêstes compostos químicos; dificilmente podem ser empregados nas cozinhas e dispensas e mesmo dentro dos dormitórios. Houve quem aconselhou a pura e simples evacuação da cidade, durante alguns dias, para poder colocá-la sob um "guarda-chuva" de inseticidas. Prefeituras mais pobres não podem arear com as despesas destas erradicações.

Por êstes motivos partiu-se para a *coleta direta* dos *escorpiões vivos*, pagando-se uma certa importância por cada animal enviado. Por êste caminho temos recebido no Instituto Butantan, no decênio de 1956 a 1966 nada menos de 256.721 *T. serrulatus* principalmente de Sta. Barbara da Nova Era, Passagem, Monlevade, Roseira, Bom Jesus do Galho e Ribeirão Prêto e 30.920 *T. bahiensis* de Ouro Prêto e de Pindamonhangaba, capturados por cêrca de meia duzia de homens apenas, geralmente caçadores. Pelos esforços dêstes pode o Inst. Butantan fazer o sôro anti-escorpiônico; além disto, contribuem para terminar com o flagelo ou, pelo menos, mantê-lo, dentro de limites toleráveis. Segundo Baerg, 1961, os Ins-

titutos mexicanos incentivavam igualmente a captura direta, chegando-se nas provincias de Durango, Nayarit, Guerrero e Colima a uma verdadeira "comercialização" dêstes artrópodos, como "varejistas" e "atacadistas"; os "alacraneros" criavam os escorpiões, para que sua "fonte de renda" não se esgotasse; houve "atravessadores", denúncias, um foi preso! Certas Municipalidades designavam, então, os "profissionais" que podiam caçar e vender um determinado número, anualmente; houve até "concessões" de Terrenos escorpioníferos e só se caçavam escorpiões que tivessem cêrca de 2 anos de idade, para poderem ser aproveitados pelos Institutos. Falava-se em meio milhão de telsa, para que se pudesse produzir sôro em quantidades suficientes para prover a tôdas as localidades.

Mas tanto no México como em Minas, nas regiões ricas em escorpiões, curiosamente o povo nativo não lhes tem muito medo. Em Sabará, Mariana e em Aparecida alguns cidadãos consideram o escorpião um "animal doméstico", embora indesejável, mas cuja presença é algo de natural e costumeiro. Em Durango o principal time de fotebol chama-se "Los Alacraneros" e há aí uma canção oficial: "Durango-tierra do alacran!..."

O. de Magalhães aventou a possibilidade de imunizar-se ativamente a população, pelo menos a juvenil, com toxoide escorpiônico para conferir-lhe uma imunidade de pelo menos meio ano.

Segundo Ezequiel Dias, Samuel Libanio, Marques Lisboa, O. de Magalhães, H. Maurano, Vital Brazil e outros não deve o expurgo das residências ser considerado como meio definitivo. Na própria construção das casas deviam ser obedecidas certas medidas de precaução, evitarem-se fendas, rachaduras, revestir as paredes com reboco; vedar tôdas as frestas nos tetos, nos rodapés; calafetar bem o assoalho e o teto; onde deve entrar ar, devem colocar-se telas finíssimas de barragem; manter as casas sempre limpas, sem baratas, grilos, para que os escorpiões não encontrem alimento; o expurgo prévio da lenha, que chega de fora, deveria ser obrigatório; muros de taipa devem ser proíbidos; os terreiros devem ser mantidos sem tijolos, telhas, madeira empilhada, para que o escorpião não encontre, onde esconder-se; a hera deve ser proibida como ornamento de muros e paredes externas.

Resumo

O Relatório inclui dados estatísticos sôbre a freqüência de escorpiões perigosos (*T. serrulatus* e *bahiensis*, principalmente), o número de acidentes em cidades "escorpioníferas", as percentagens de mortalidades (quasi só em crianças) sem e com sôro.

A *soroterapia* é postulada em tôdas as regiões, onde existe o *T. serrulatus* e quando as vítimas têm menos de 12 a 15 anos. Para os *casos* ditos *graves* indica-se a *via intravenosa*, devendo as *doses serem generosas*- até 5 ou mais ampolas de 5 ml cada, de uma só vez por via venosa. Em casos *gravíssimos* foi recomendada por O. de Magalhães a *via intra-raquiana*, que dispensaria maiores quantidades de anti-sôro.

Em face do fato, estatisticamente comprovado, de que um prazo de 2 a 3 horas, desde o acidente até a soroterapia, é às vêzes já longo demais, para se salvar a vida, postula-se que- em cidades, onde existam *T. serrulatus* em grande quantidade e onde costuma haver acidentes, em maior ou menor número anual, *a população local fique constantemente alertada sôbre o perigo* por meio de conferência, palestras, cursos, publicações pela imprensa, para que procure imediatamente o Posto médico,

promova a desinfecção domiciliar constante, elimine dos quintais tijolos, telhas e madeiras empilhadas, tenha particular cuidado em manejar lenha empilhada, etc.

Acentua-se que o Brasil foi um dos primeiros países do mundo a preocupar-se com o problema do escorpionismo, tendo Vital Brazil lançado, já em 1905, as bases para a fabricação de um sôro anti-escorpiônico, mais tarde produzido em escala industrial no Instituto Butantan e temporàriamente também no Instituto Ezequiel Dias de Belo Horizonte.

A contribuição brasileira pelas Escolas do *Instituto Butantan*, de *Belo Horizonte* (Inst. Ez. Dias e Faculdade de Medicina), de *Ribeirão Prêto* (Faculdade de Medicina) e de Campinas (Fac. de Medicina) à bioquímica e farmacologia das peçonhas escorpiônicas formam valiosa contribuição ao esclarecimento dêstes complexos tóxicos.

As *campanhas profiláticas de erradicação*, conduzidas pelos Serviços de Profilaxia da Malaria, sob a égide da Secretaria da Saúde, nas cidades de *Ribeirão Prêto* e em *Belo Horizonte*, em 1950, demonstram a eficiência dos inseticidas de contato, o BHC, o DDT, o Rhodiatox e de outros, mas deixam entrever também, que uma única aspersão não é suficiente e não acaba com o flagelo.

Os acidentes escorpiônicos acontecem dentro das residências; as pessoas, que exercem habitualmente os afazeres de casa, são as mais expostas.

Para cidades, particularmente sujeitas a esta "praga", julgamos oportuno que se criem "Centros de Vigilância Permanentes", possìvelmente sujeitos às respectivas Secretarias de Saúde e com as seguintes incumbências:

divulgação entre a população dos meios de combate ao escorpião dentro da cidade e das residências;

promover para que os picados sejam imediatamente encaminhados aos diversos Postos de Saúde, onde há estoques permanentes de sôro;

coleta de escorpiões e seu envio ao Instituto Butantan, para que haja sempre "matéria prima" para a produção do sôro.

Abstract

This "relatorium" describes statistical data of the *frequency* of dangerous scorpions, *T. serrulatus* and *bahiensis*, in Minas Gerais and São Paulo, the number of *accidents* by *serrulatus* — infested cities, the percentages of *deaths* (in children) *without* and *with anti-serum*. *Serumtherapy* is postulated for all severe cases, produced by *serrulatus*, chiefly when victims are under 12 to 15 years old. From 5 to more vials of anti-serum have to be administered, by the *intravenous*-route, as soon as possible after the accident. Even from 2 to 3 hours may often be too late. O. de Magalhães recommended in these cases the *intra-rachian*-way for the serumtherapy.

In certain cities of Minas, São Paulo and Goiás, the scorpion, *T. serrulatus*, must be considered as "public enemy number one" among all other venomous animals. Permanent Vigilancy-Centers, addicted to Health-Secretaries, are urgently recommended, to instruct all the people of infested places by conferences, in schools, newspapers, radio, etc. to follow some simple precautions:

1. Not to walk around in the house-rooms barefooted after dark (scorpions are night animals);
2. Shake your shoes and your clothes and bed-linen before using.
3. Keep your beds away from the walls. The legs of baby-beds should be kept inside of wide-mouthed porcellan or glass-jars (scorpions cannot climb smooth glass).

4. Scorpions can be killed with DDT, BHC, RHODIATOX, NEGUVON or one of modern contact insecticides, but their eradication is much more difficult than that of other house-pests. Chickens and cats may act as scorpion controllers. *Cats can be really trained to catch scorpions!* It seems that the most effective insecticide in eradication of scorpions should leave a residue that is toxic to them for a minimum of 3 to 4 months! Therefore, kerosene-dissolved chemicals seem the best. After evaporation of kerosene a very fine layer of insecticide will remain and adhere to the scorpion-body and paralyze it.
5. Keep away of old boxes, rags, bricks, lumber, boards, sticks, papers, etc. from house-rooms, garages, gardens.
6. Old carter- or tractor-oil, poured in the crevice at the house foundations, makes this place unhabitable for scorpions.
7. Trap scorpions at your home and send it to INSTITUTO BUTANTAN for serum production: Damp burlap sacks or old clothes and spread it in the evening over the ground, along walls. During the night or at evening scorpions will crawl under it and can be readily captured the following morning. BUTANTAN, at request, will send you "Scorpion-boxes".

BIBLIOGRAFIA

Adam, K. R. and *Weiss, CH.* — Some aspects of the pharmacology of the venoms of african scorpions, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Internac.* 33(2):60-614, 1966.

Amaral, A. do — Specific antivenins to combat scorpionism and arachnidism, *Bull. Antiv. Inst. Am.* 2(3):59-77, 1928.

Anguiano, L. G., Alcaraz, M. V. y *Aguado, E. S.* — Efectos pupilomotores provocados por el veneno de alacran, *Bol. Inst. Estud. Méd. Biol.* 15(2):87-96, 1957.

Baerg, W. J. — Some poisonous arthropods of North and Central America, *IV Intern. Congr. Ent.* 2:418-438, 1929.

Baerg, W. J. — Regarding the biology of the common Jamaican scorpion, *Ann. Ent. Soc. Am.* 47(2):272-276, 1954.

Baerg, W. J. — The stinging scorpion, *Today's Health* 32(12):28-30, 1954.

Baerg, W. J. — Scorpions: Biology and effect of their venom, *Arkans. Experim. Stat., Bull.* 649:1-34, 1961.

Balozet, L. — La mesure de l'efficacité thérapeutique des sérums antivenimeux, *Arch. I. Pasteur d'Algérie* 37(3):387-400, 1959.

Ball, E. T. — Scorpion stings, *Science* 88:427-428, 1938.

Barros, E. F. — Aspectos anátomo-patológicos do SNC na intoxicação escorpiônica, *O Hospital* 12(3):3-22, 1937.

Barros, E. F. — Contribuição ao conhecimento das lesões nervosas centrais provocadas pelo veneno escorpiônico. Tese, Fac. Med. Univ. M.G., Belo Horizonte, 1937, *Mem. Inst. Biol. Ezequiel Dias* 1:9-300, 1937.

Barros, E. F. — Aspectos clínicos da intoxicação escorpiônica, *Mem. Inst. Biol. Ezequiel Dias* 2:103-278, 1938.

Barros, E. F. — O quadro clínico da intoxicação escorpiônica, *O Hospital* 14(2):1-25, 1928.

Belesme, J. de — Essai sur le venin de scorpion, *Rev. Mag. Zool.* 23(2):150-151, 1872.

Brazil, V. — Contribuição ao estudo do envenenamento pela picada do escorpião e seu tratamento. Mem. apresent. ao VI Congr. de Medic. e Cirurg., 1907, *Collect. Inst. Butantan*, 1:69-81.

Brazil, V. — Sôro anti-escorpiônico, *Mem. Inst. Butantan* **1**(1):47-52, 1918.

Bücherl, W. — Manutenção de escorpiões em viveiros e extração do veneno, *Mem. Inst. Butantan,* **25**(1):53-82, 1953.

Bücherl, W. — Atividade das peçonhas de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* sôbre camundongos, ibidem: 83-108, 1953.

Bücherl, W. — Combate ao escorpião, *T. serrulatus,* nos terrenos da General Motors do Brasil, em São José dos Campos, ibidem **29**:243-253, 1959.

Buchmann, M. — Tutocain bei Skorpionstichen, *Arch. f. Schiffs-u. Tropenhyg,* **32**: 612-613, 1928.

Calmette, A. — Les venins, les animaux venimeux et la sérothérapie antivenimeuse, 1. vol. Paris, Masson, 109.

Camargos Loureiro, M. — Escorpiões de Minas Gerais, *Ceres* **10**(59):360-263, 1958.

Camargos Loureiro, M. — Escorpiões de Minas Gerais II. O município Viçosa *Ceres* **61**(62):'4-72, 1960.

Camargos Loureiro, M. — III — Sindrome escorpiônico provocado por *T. trivittatus dorsomaculatus, Ceres* **11**(62):96-101, 1960.

Cervera, E. — Suero anti-alacranico, *Bol. Of. San. Panam.,* **15**:142-149, 1936.

Cervera, E. y *Varela, G.* — El veneno del Alacran *Centruroides l. limpidus, Medicina* **17**:8-84, 1937.

Corrado, A. P., Antonio, A. & Diniz, C. R. — Recent advances on the mechanism of action of brazilian scorpion venom, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Intern.* **33**(3):957-960, 1966.

Dias, E., Libanio, S. & Lisboa, M. — Luta contra os escorpiões, *Mem. Inst. O. Cruz,* **17**(1):5-27, 1924.

Diniz, C. R. & Moura-Gonçalves, J. — Some chemical and pharmacological properties of brazilian scorpion venoms, *in* Venoms, E. E. Buckley and N. Porges (Edit.). A.A.A.Sc., Washington, 1956: pgs., 131-139.

Diniz, C. R. and *Valeri, V.* — Effects of a toxin present in a purified extract of telson from the scorpion, *T. serrulatus,* on smooth muscle preparations and in mice, *Arch. Int. Pharmacodyn.* **121**(1-2):1-13, 1959.

Diniz, C. R. and *Moura Gonçalves, J.* — Separation of biologically active components from scorpion venom by zone electrophoresis, *Bioch. et biophys. Acta* **41**:470-477, 1960.

Diniz, C. R. — Natureza química dos venenos de arachnideos. An. II Reunião Quim. Orgân. e Bioquim. P. da Silva Lacaz (Editor), 1962, pgs. 63-69.

Diniz, C. R. et al. — Chemical properties and biological activity of *Tityus* venom, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Intern.* **33**(2):453-456, 1966.

Flecker, H. — Injuries caused by australian scorpion, *Med. J. Austral.* **1**(23):875-876, 1937.

Fischer, F. G. und *Bohn, H.* — Die Gifte der brasilianischen Skorpione, *T. serrulatus* und*T. bahiensis* — *Hoppe Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem.* **306**:269-272, 1957.

Gohar, M. A. — Some observation on scorpion venom with special references to its detoxication, *J. Egypt. Med. Ass.* **17**(7):608-618, 1934.

Gomez, M. V. e *Diniz, C. R.* — Separation of toxic components from the brazilian scorpion, *T. serrulatus*-venom, *Mem. Inst. Butantan,* Sim. Intern. **33**(3):899-902, 1966.

Gomez, M. V. — Purificação e caracterização da toxima do escorpião, *T. serrulatus*. Tese. Escola Vet. Univ. F. Minas Gerais, Belo Horizonte, 1967.

Guyon, M. — Piqûres de scorpion chez l'homme, terminées par la mort, *Comp. Rend. Séanc. Acad. Sci*: 404-407, 1852.

Hanan, M. A. — Preparation of antiscorpion serum, *Lancet* 9:364-365, 1942.

Hody, S. H. — Aphazia and complete right hemiplegia after scorpion bite, *Indian Med. Gaz.* 13:285-286, 1938.

Hoffmann, C. C. — Contribución al conocimiento de los venenos de los alacranes mexicanos, *Bol. Inst. Hig. 2.ª ser.* 2(4):182-193, 1935.

Hoffmann, C. C. y *Vargas, L.* — El suero anti-alacrânico, *Bull. Inst. Hig,* 8:182-183, 1935.

Hoffmann, C. C. y *Roaro Neto, D.* — Segunda contribución al conocimiento de los venenos de los alacranes mexicanos, *An. Inst. Biologia* 10(1-2):83-92, 1939.

Houssay, B. A. — Action physiologique du venin des scorpions, *B. quinquestriatus* e *T. bahiensis, J. Physiol. Pathol. Génerale* 18(2):307-317, 1919.

Houssay, B. A. y *Mazzoco, P.* — Mecanisme de l'action des venins des serpentes et des scorpions sur le muscle strié, *Compt. Rend. Soc. Biol.* 93(2):1,120-1.122, 1925.

Ihering, R. von — Os escorpiões do Brasil Meridional, *An. Paul. Med. Cirur.* 3 (3-4):49-57, 1915.

Jousset, de Bellesme, M. — Recherches faites avec le venin du scorpion, *Compt. Rend. Soc. Biol. 5ª. ser.* (4):252-243, 1872.

Joyeux Laffuie, J. — Sur l'appareil venimeux et le venin du scorpion, *Compt. Rend. Soc. Biol.* 95:866-867, 1882.

Kamon, E. and *Shulow, A.* — Estimation of locust resistance to scorpion venom, *J. Inst. Pathol.* 5(2):206-214, 1963.

Kamon, E. and *Shulow, A.* — Immune response of locusts to venom of the scorpion, *J. Invertebr. Pathol.* 7(2):192-198, 1965.

Kent, M. L. and *Stahnke, H. L.* — Effect and treatment of Arizona scorpion stings, *Southw. Med.* 23:120-121, 1939.

Kjcllesvig Waering, E. N. — The scorpions of Trinidad and Tobage, *Carib. J. Sci.* 6(3-4):123-135, 1966.

Kubota, S. — On the toxicity of the venom of mexican (Durango) scorpion as compared with that of chinese scorpion, *J. Pharm. Exper. Therap.* 11:447-489, 1918.

Linnell, R. — Note on a case of death following the sting of a scorpion, *Lanncet* 1: 1608-1609, 1914.

Lopes da Silva, T. — Escorpionismo em Ribeirão Prêto. Notas sôbre epidemiologia e profilaxia, *Arqu. Hig. Saude Publ., S. Paulo,* 15:79-90, 1950.

Lordello, L. G. E. — Notícia preliminar sôbre a ação do B.H.C. e do Rhodiatox nos escorpiões *T. serrulatus* e *T. bahiensis, Rev. Agricult., Piracicaba,* 25(11-12): 367-380, 1950.

Lordello, L. G. E. — Breves notas sôbre escorpiões e sôbre o problema escorpiônico de Ribeirão Prêto, *Rev. Agricult., Piracicaba,* 25(9-10):313-316, 1950.



Magalhães, O. de — Contribuição para o conhecimento da intoxicação do veneno dos escorpiões, *Mem. Inst. O. Cruz* **21(1)**:5-139, 1928.

Magalhães, O. de — Contribuição dos acidentes pelas picadas dos escorpiões no Brasil, *An. Fac. Med. Univ. Minas Gerais* **1**:69-111- 1929.

Magalhães, O. de — Escorpionismo, 3.ª Mem. Contribuição para o conhecimento do mecanismo da intoxicação pelo veneno dos escorpiões, *An. Fac. Med. Belo Horizonte* **4(1)**:3-52, 1935.

Magalhães, O. de e *Tupinambá, A. A.* — Escorpionismo, *Brasil Médico* **52(29)**:651-652, 1938.

Magalhães, O. de — O síndrome escorpiônico, *O Hospital* **15(1)**:137-149, 1939.

Magalhães, O. de e *Guimarães, R.* — Algumas observações sôbre acidentes pela picada dos escorpiões, *Brasil Médico* **55(27)**:466-467, 1941.

Magalhães, O. de — Escorpionismo, 4.ª Mem., *Monograf. Inst. O. Cruz,* **4**:1-220, 1946.

Marinkelle, C. J. and *Stahnke, H. L.* — Toxicological and clinical studies on *Centruroides margaritatus*, a common scorpion in Western Colombia, *J. Med. Ent.* **2(2)**:197-199, 1965.

Maurano, H. R. — Dissertação do escorpionidismo. Tese. Tip. do Jornal do Comércio, Rio. Rodrigues e Co., 1915, 268 pgs.

Matthiesen, F. A. — Aspectos morfológicos e biológicos dos escorpiões. Tese. Fac. F. C. Univ. S. Paulo, 1966.

Nemenz, R. und *Gruber, J.* — Experimente und Beobachtungen an *Heterometrus longimanus petersi, Verh. Zool. Bot. Ges., Wien,* **107**:5-24, 1967.

Nitzan, M. and *Shulow, A.* — Electrophoretic patterns of the venoms of six species of israeli scorpions, *Toxicon* **4**:17-23, 1966.

Phisalix, C. et *De Varigny, H.* — Recherches éxperimentales sur le venin du scorpion, *B. australis, Bull. Mus. Hist. Nat.* **2**:67-73, 1896.

Pozo, E. C. del — Pharmacology of the venoms of mexican *Centruroides, Mem. Inst. Butantan, Simp. Internat.* **3(2)**:615-625, 1966.

Pozo, E. C. del, Salas, M. and *Pacheco, P.* — Effects of scorpion venom at neuromuscular junction, *Mem. Inst. Butantan, Simp. Internat.* **33(3)**:961-964, 1966.

Rochat, C., Rochat, H., Miranda, F. and *Lissitzky, S.* — Purification des neurotoxines du scorpion, *A. australis, Mem. Inst. Butantan, Simp. Internat.* **33**(2)447-452, 1966.

Sergent, M. E. — Action thérapéutique du sérum antiscorpionique, *Compt. rend. Séanc, Acad. Sci.* **224**:1035-1037, 1947.

Shulow, A. — On the poison of scorpions in Palestina. *Harefuah* **15(1-2)**:14-16, 1938.

Shulow, A. — On the poison of scorpions in Israel, *J. Med. As. Isr.* **49(6)**:131-133, 1955.

Silva, A. C. Pacheco — Paralisia dissociada do plexo braquial consecutiva à soroterapia anti-escorpiônica, *Bol. Soc. Med. Cirur.* **17**:34-37, 1933.

Spencer, H. A. — Scorpion stings, *S. Afr. M. J.* **6**:157-159, 1932.

Stahnke, H. L. — The Arizona Scorpion problem, *Ariz. Medic.* **7(3)**:23-29, 1950.

Stahnke, H. L. — Scorpions, Pois. Anim. Research Lab. (Edit.), Tempe, Ariz. pgs. 1-36, 1956.

Stahnke, H L. and *Stahnke, J.* — The treatment of scorpion sting, *Ariz. Medicine* **14(10)**:576-580, 1957.

Todd, C. — An anti-serum for scorpion venom, *Journ. Hyg.* **9**:69-85, 1909.

Tomb, J. W. — The treatment of scorpion sting, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **17**:520-521, 1924.

Varela, G. — El cloruro de calcio en la intoxicación por la toxina del escorpion de Guerrero, *C. l. limpidus* — *An. Escuela Nac. Ci. Biol.* **1**:133-134, 1938.

Varela, G. — Toxina del escorpion de Guerrero, *Gaz. Med. de México* **69**:335-336, 1939.

Viana Martins, A. — Anavaneno escorpiônico, *Brasil Médico* **57(23-24)**:248-251, 1943.

Villla, E. — Soroterapia anti-escorpiônica, *Brasil Médico* **46**:93, 1917 e **21**:161-162, 1918.

Waterman, J. A. — Some notes on scorpion poisoning in Trinidad, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **31**:607-624, 1938.

Waterman, J. A. — Some observation on the habits and life of the common scorpion of Trinidad, *ibidem* **33(1)**:113-118, 1939.

Vital Brazil, O. — Some aspects of the pharmacology of the venoms of african scorpions. Discussion. *Mem. Inst. Butantan* **33(2)**:610-612, 1966.

Waterman, J. A. — Scorpions in the West Indies. *Carib. Med. J.* **12(5)**:3-12, 1951.

Waterman, J. A. — Some notes on scorpion poisoning in Trinidad, *Carib. Med. J.* **19(1-2)**:113-128, 1957.

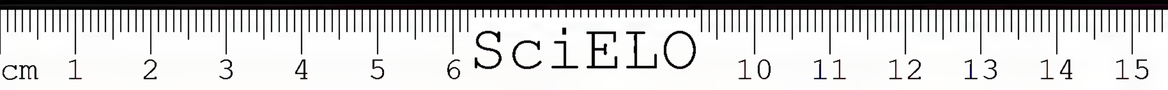
Weissmann, A. et *Shulow, A.* — Investigation on the venom of the scorpion *Buthotus judaicus. Arch. de l'Inst. Pasteur d'Algérie* **37(1)**:202-217, 1959.

Whittemore, F. W., Keegan, H. L. and *Borowitz, J. L.* — Studies of scorpion antivenins: I. Paraspecificity, *Bull. Org. mond. Santé* **25**:185-188, 1961.

Whittemore, F. W., Keegan, H. L. at al. — Studies of scorpion antivenins. 2. Venom collection and colony maintenance, *Bull. Org. mond. SAnté* **28**:505-511, 1963.

Wilson, W. H. — On the venom of scorpions, *Rec. Egypt. Goverm. School Mcd.* **2**: 7-44, 1904.

Wilson, W. H. — The physiological action of scorpion venom, *J. Phys.* **31**:48-49, 1904.



ARANHAS DA FAMÍLIA CTENIDAE

II. PHONEUTRIINAE SUBFAMÍLIA NOVA *

WOLFGANG BÜCHERL **

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

As aranhas do gênero *Phoneutria* Perty 1833 (1) vivem em nosso meio, costumam penetrar em nossas residências, colocar-se em posição de defesa "armada" — o que lhes rendeu o nome popular de "armadeiras" — picam fàcilmente e o seu veneno é um dos mais ativos sôbre o homem e a maioria dos animais domésticos.

Pois, justamente as espécies dêste importante gênero, estudado já em 1925 e 26 por Vital Brazil e Jehan Vellard (2, 3) sob o ponto de vista médico sanitário, eram por longo tempo e ainda o são frequentemente confundidas com as do gênero *Ctenus* Walckenaer 1805 (4). Roewer (5), ainda em 1954, no "Katalog der ARANEAE", páginas 638-657, as incorporava sob o último gênero, em flagrante inobservação da revalidação do gênero *Phoneutria*, feita por Mello-Leitão em 1936 (6).

Estudos sistemáticos (7), de distribuição geográfica (8), da biologia (8, 9), do mecanismo da picada (10), da conformação da glândula de veneno (11), da atividade de seu veneno sôbre animais de laboratório (12, 13) não só nos convenceram da profunda diferença entre os dois gêneros *Phoneutria* e *Ctenus*, mas justificam, a nosso ver, o estabelecimento de uma subfamília nova, a das PHONEUTRIINAE, para dirimir em definitivo qualquer dúvida sôbre a validade dêste importante gênero.

MATERIAL E MÉTODO

Desde 1948 temos dedicado especial atenção às aranhas do gênero *Phoneutria*, cujas glândulas de veneno são aproveitadas sem interrupção, a partir de 1925, na elaboração dos soros anti-aracnídicos. Em 500 viveiros, sobrepostos e seriados, foi possível proceder-se às mais diversas observações biológicas: alimentação, consumo de água, acasalamento, ootecas e posturas, eclosão dos filhotes, mudas de pele, extrações periódicas por electro-choque dos venenos. A morfologia de filhotes, jovens e adultos, machos e fêmeas foi e ainda está sendo estudada principalmente no tocante aos caracteres que separam as aranhas dêste gênero das de outros.

---

* Apresentado por W. Bücherl no simpósio sôbre "Web Building spiders", da A.A.A.S., Section on Zoology, em New York, dezembro de 1967. Trabalho realizado sob os auspícios do F.P.I.B.

** Bolsista do F.P.I.B.

Recebido para publicação em 15 de março de 1968.

De 1956 até fins de novembro de 1967 foram recebidos pelo Instituto Butantan e mantidos vivos na Secção de Artrópodos Peçonhentos 7.303 exemplares de *Phoneutria*, pertencentes possivelmente a duas espécies.

Histórico da família CTENIDAE e de suas subfamílias

Walckenaer (14), em 1837, distinguiu no gênero *Ctenus* três grupos, "família" *Ambiguae, Genuinae e Phoneutriae.* Keyserling (15), em 1877, estabeleceu para o gênero a família CTENIDAE. Simon, entretanto, em 1897 (16) reuniu os DRASSIDAE, LYCOSIDAE e THOMISIDAE na superfamília dos CLUBIONIDAE, que comprendia então 8 subfamílias, incluindo a das CTENINAE. Em 1909 (17) agrupou os gêneros das três subfamílias CTENINAE, ACANTHEINAE e CALOCTENINAE, continuando a adotar o nome CLUBIONIDAE para a família. A maioria dos autores, entretanto, adotou definitivamente o nome de CTENIDAE Keys. 1877. Além das três subfamílias, reconhecidas também por Petrunkevitch (18), estabeleceu Mello-Leitão (16), em 1936, a subfamília ARGOCTENINAE e, em 1939, (19) a CORINOCTENINAE.

Caracterização das aranhas da família CTENIDAE

Labidognatas, dipneumatomorfas, aeribeladas, com seis fiandeiras; pernas com duas garras denteadas em uma só fila, com tufos subungueais e com densas escópulas ventrais nos tarsos e nos metatarsos. Em alguns gêneros podem as escópulas metatarsais ser reduzidas no terceiro e no quarto par de pernas, principalmente em machos. Com oito olhos em três fileiras, segundo o esquema: 2-4-2 (apenas em ACANTHEINAE: 4-2-2); lábio livre, mais longo que largo, tão longo quanto largo ou mais largo que longo; lâminas maxilares quase paralelas, distalmente pouco ou muito alargadas, em *Corinoctenus,* foliar, sempre com escópula apical, que costuma estender-se também por uma grande área da face anterior interna; fóvea torácica longitudinal; goteira queliceral com dentes nas duas margens; face externa do artículo basal das quelíceras com pequeno côndilo.

Descrição de PHONEUTRIINAE *subfamília nova*

Em 1902 procedeu F. Pickard Cambridge (20) a uma revisão das espécies neotropicais de *Ctenus* e distinguiu nitidamente dois grupos: o primeiro "tibia and tarsus of pedipalp with thick velvety pad of soft and short hair on inner side. Patella and tibia I in the females much longer than patella and tibia IV... vulva with a pair of dark longitudinal ridges (only on *reidyi* and *andrewsi* without ridges but emarginate anteriorly) — *reidyi, andrewsi, rufibarbis, boliviensis, nigriventer, feras*", e o segundo grupo: "Tibia and tarsus of pedipalp without any pad of short hair on the inner side. Patella and tibia I in the females equal to or only slightly longer than patella and tibia IV. Vulva with a pair of oval, convex, obliquely convergent tubercles on anterior portion (*Ctenus medius*) or simple, broad, convex (*C. falcatus*), with or without a stout curved dentiform process".

Ora o primeiro grupo abrange exatamente as espécies do gênero *Phoneutria* e o segundo as do gênero *Ctenus.*

PHONEUTRIINAE subfamília nova pode ser caracterizada:

1.º — pela presença em filhotes e adultos, machos e fêmeas, de uma *densa escópula veludosa,* formada por pêlos curtos, escópula esta que ocupa tanto a face

anterior como a ventral das tíbias e dos tarsos dos palpos (Fig. 1); nas tíbias a escópula é estreita na porção basal e se alarga distalmente, nos tarsos ela é larga na base e se estreita para a frente em sentido tangencial. Em *Ctenus* existem nestas áreas pêlos comuns ou cerdas longas, que nunca formam escópula.

2.º — Pelo aspecto do epígino das fêmeas, das apófises tibiais e do bulbo dos machos: O epígino (Figs. 2, 3) ou é alongado, com área central, acompanhada dos dois lados por uma trabécula de quitina espessa e saliente e com mais outra saliência lateral posterior (as espécies do Sul do Brasil) ou (nas espécies amazônicas) a porção central apresenta uma entrância anterior com um processo saliente em cada lado depois do meio. Os epíginos de *Ctenus* apresentam aspecto profundamente e inconfundìvelmente diferente, em geral bilobados, largos, com a maior largura no terço anterior. Em *Phoneutria* a maior largura fica no terço posterior e a peça tôda é estreita na frente. Os machos de PHONEUTRIINAE apresentam geralmente 1 só apófise tibial, não ou muito pouco bifurcada, os de CTENINAE têm apófise dupla ou nìtidamente bífida. O alvéolo do bulbo copulador em PHONEUTRIINAE (Fig. 4) é encoberto geralmente pela escópula veludosa, o que não ocorre em *Ctenus*.

3.º — A ooteca das PHONEUTRIINAE apresenta a forma de um disco, é afixada pela mãe num objeto propício e não carregada, pousando a mãe ao lado. A maioria das CTENINAE tem ootecas pequenas, bastante achatadas e que são carregadas pela mãe sob o esterno.

4.º — As PHONEUTRIINAE, principalmente no sul do Brasil, onde são mais frequentes, "armam" invariàvelmente o bote, colocam-se em defesa "armada", saltam e picam, enquanto que as CTENINAE procuram fugir.

5.º — A ação do veneno, até agora estudado nas espécies do Sul do Brasil, se faz sentir principalmente sôbre o sistema nervoso periférico, verificando-se centenas de acidentes humanos de ano para ano (PHONEUTRIINAE). As CTENINAE, ao contrário, além de serem relativamente raras, não têm provocado acidentes humanos quase.

Chave das subfamílias de CTENIDAE

1. Lâminas maxilares de base estreita, contornando o lábio e dilatando-se apicalmente em forma de fôlha, com seus bordos externos muito curvos; lábio pouco mais longo que largo, também um pouco dilatado na frente e com os ângulos anteriores arredondados — CORINOCTENINAE Mello-Leitão 1939;

   Gênero único: *Corinoctenus* M. L. 1939;

   Genótipo: *C. anomalostomus* M. L. 1939 — 1 fêmea. Procedência: Delta de Las Palmas, Argentina. Tipo no Mus. Argent. de Ciências Naturales, Buenos Aires, sob o n.º 3823.

   Lâminas maxilares com base relativamente larga e com lados interno e externo relativamente direitos, com ápice mais largo, mas apenas moderadamente dilatado e com a porção externa, que corresponde à inserção dos trocânteres, levemente escavada 2

2. Lábio mais largo do que longo (apenas em poucas espécies de *Odo* tão largo quanto longo), moderadamente arredondado na frente e sem escavações laterais e não ultrapassando geralmente a metade do comprimento das lâminas maxilares 3

Lábio mais longo do que largo ou pelo menos tão longo quanto largo, ultrapassando ou pelo menos atingindo o meio dos maxilares; sempre com escavações laterais 4

3. Tíbias I e II com 7 a 9 pares de espinhos inferiores muito longos (raras vêzes apenas 5 pares) — CALOCTENINAE (Simon) 1897 —

Gêneros: *Anahita* Karsch 1879 com 18 espécies palaeárticas, 1 oriental e 2 neotropicais (Bahamas e sul de U.S.A.); *Apolania* Sim. 1897, 1 espécie das Seichelas; *Caloctenus* Keyserling 1876 com 10 espécies da África e 7 neotropicais (São Vicente, Venezuela e Brasil), *Elassoctenus* Sim. 1909 com 1 esp. da Austrália, *Gephyroctenus* Mello-Leitão 1936 com 3 esp., Guianas e Paraná, Brasil, *Hestimodema* Sim. 1909 com 2 esp. da Austrália, *Odomasta* Simon 1909 com 1 esp. Tasmania, *Pseudoctenus* Caporiacco 1949 com 1 esp. de Kania, *Thasyraea* L. Koch 1878, com 2 esp. da Austrália e *Trujilina* Bryant 1948, com 1 esp. de San Domingo.

Tíbias I e II com apenas 4 pares de espinhos inferiores ou menos; olhos anteriores em linha direita ou pouco recurva— ARGOCTENINAE Mello-Leitão 1936. —

Gêneros: *Argoctenus* L. Koch 1878, com 8 esp. da Austrália, *Centroctenus* Mello-Leitão 1929, com 2 esp. da Argentina e de Pernambuco, Brasil, *Horioctenus* Chamberlin 1916 com 4 espécies sul-americanas (1 — Peru, 2 — Argentina, 1 — Brasil), *Neoctenus* Simon 1897 com 3 esp. de Fonteboa; Amazonas, *Odo* Keyserling 1887 com 2 esp. da Austrália e 14 espécies neotropicais, sendo 5 do Brasil, *Paravulsor* Mello-Leitão 1922 com 1 esp. do Rio de Janeiro, *Vulsor* Simon 1888 com 7 espécies da África e 1 do Brasil.

4. Tíbias I e II geralmente com 6 ou mais pares de espinhos inferiores, longos e cerdiformes; cefalotórax relativamente plano, com a região cefálica bem destacada da torácica e mais elevada; olhos 2-4-2 ou 4-2-2 (no segundo caso as dimensões dos olhos anteriores semelhantes às de *Lycosa*) — ACANTHEINAE (Simon) 1897. —

Gêneros: *Acantheis* Thorell 1891 com 6 espécies da Índia, *Ctenomma* Thorell 1890 com 1 espécie da Austrália, *Diallomus* Simon 1897 com 2 espécies de Ceilão, *Enoploctenus* Simon 1896 com 5 espécies exclusivamente do Brasil, *Mesoctenus* Mello-Leitão 1929, com 1 espécie de Pernambuco, *Nothroctenus* Badcock 1932 com 2 espécies de Paraguassú, Bahia e do Paraguai, *Phymatoctenus* Simon 1896 com 4 espécies, sendo 3 de Costa Rica e 1 do Tocantins, Brasil, *Zora* C. L. Koch 1848 com 18 espécies da Europa e Asia Menor e 1 esp. de Alabama, *Zoroides* Berland 1924 com 1 espécie da Nova Caledônia, *Paracantheis* Kraus 1955 com 1 espécie de El Salvador.

Tíbias I e II geralmente com 4 a 5 pares de espinhos inferiores, robustos, eréteis e moderadamente longos; olhos 2-4-2; carapaça mais elevada na região da fóvea torácica 5

5. Tíbias e tarsos dos palpos em machos e fêmeas apenas com a costumeira escópula ventral; na face anterior dos mesmos artículos há cerdas ou pêlos robustos — CTENINAE Simon 1897 —

Gêneros: *Asthenoctenus* Simon 1897 com 6 espécies da Argentina, *Celaetycheus* Simon 1897 com 6 espécies de Cuba, Guianas, Porto

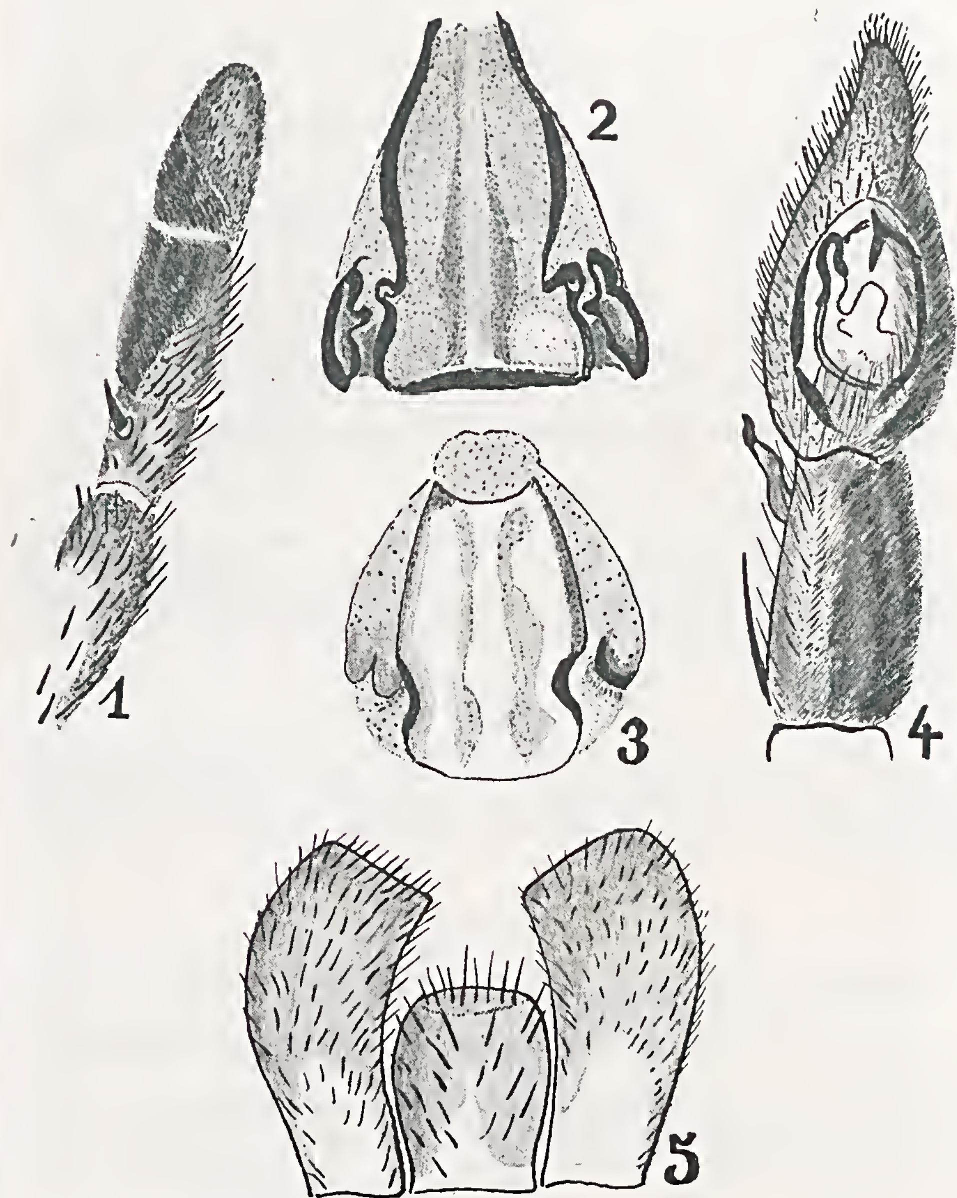


Fig. 1 — Palpo direito de uma **Phoneutria**, fêmea, com escópula veludosa nas faces anterior e ventral da tíbia e do tarso.

Fig. 2 — Epígino de um espécimen de *Phoneutria* de São Paulo.

Fig. 3 — Epígino de um espécimen de *Phoneutria* da Amazônia.

Fig. 4 — Palpo do macho de uma *Phoneutria* com o esporão tibial e o bulbo copulador.

Fig. 5 — Lábio e Lâminas maxilares de uma *Phoneutria*.

Rico e Panamá, *Ctenus* Walckenaer 1805 com 127 espécies palaeárticas, 8 da região australiana, 1 neártica e 145 neotropicais, sendo cêrca de 60 do Brasil, *Cupiennius* Simon 1891 com 17 espécies exclusivamente neotropicais, *Diactenus* Mello-Leitão 1938 com 1 espécie da Argentina, *Incasoctenus* Mello-Leitão 1942 com 1 espécie do Peru, *Isoctenus* Bertkau 1880 com 4 espécies, sendo 2 do Paranaguá e 2 do Rio de Janeiro. *Itatiaya* Mello-Leitão 1915 com 3 espécies, sendo 1 do norte da Argentina, 1 do Brasil e 1 de Porto Rico, *Thoriosa* Simon 1910 com 3 espécies da África, *Titiotus* Simon 1897 com 2 espécies, sendo 1 da Califórnia e 1 do Brasil, *Tuticanus* Simon 1896, com 2 espécies do Peru e Equador, *Uliodon* L. Koch 1873 com 9 espécies da região australiana e 1 da Etiópia.

Tíbias e tarsos dos palpos em machos e fêmeas, além da escópula ventral ainda com escópula veludosa na face anterior — PHONEUTRIINAE subfamília nova —

Genótipo: PHONEUTRIA Perty 1833, com 12 espécies sul-americanas.

RESUMO

PHONEUTRIINAE é descrita como sub-família nova de CTENIDAE; é comparada com as demais subfamílias, sendo citados também os gêneros e o número de espécies de cada gênero, bem como sua distribuição geográfica.

SUMMARY

PHONEUTRIINAE is described as a new subfamily of the CTENIDAE, LABIDOGNATHA, ARANEIDA and compared with all the other subfamilies; the names of all the genera are given, including their number of species with geographical distribution.

BIBLIOGRAFIA

1. *Perty, M.* — Brasilianische Spinnen. In J. B. de Spix et F. P. Martius Deleutus Animalium... Monachii 1833 pgs. 191-209.

2. *Brazil, V.* e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. *Mem. Inst. Butantan* 2:3-77, 1925.

3. *Brazil, V.* e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas II. *Mem. Inst. Butantan* 3(1):243-299, 1926.

4. *Walckenaer, C. A.* — Tableau Aranearum, Paris 1805, pgs. 1-88.

5. *Roewer, C. F.* — Katalog der Araneae, 2. Band, Abt. a, Bruxelles, 1954, pgs. 638-658.

6. *Mello-Leitão, C. de* — Contribution à l'étude des Ctenides du Brésil. *Festschr. E. Strand* 1:1-31, 1936.

7. *Bücherl, W.; Lucas, S.* e *Dessimoni, V.* — Redescrição dos gêneros *Ctenus* Walck. 1805 e *Phoneutria* Perty 1833. *Mem. Inst. Butantan* 31:95-102, 1964.

8. *Bücherl, W.* — Estudos sôbre a biologia e sistemática do gênero *Grammostola*. *Monograf. Inst. Butantan* 1:1-134, 1951.

9. *Bücherl, W.* — Biologia de Artrópodos peçonhentos. *Mem. Inst. Butantan* **31**: 85-94, 1964.

10. *Bücherl, W.* — Distribuição geográfica de Artropodos peçonhentos temíveis e Mecanismo da picada das aranhas peçonhentas perigosas. *Mem. Inst. Butantan* **31**:55-76, 1964.

11. *Bücherl, W.* — Histologia das glândulas de veneno de algumas Aranhas e Escorpiões. *Mem. Inst. Butantan* **31**:77-84, 1964.

12. *Bücherl, W.* — Nôvo processo de obtenção de veneno sêco, puro, de *Phoneutria nigriventer* e titulação da LD 50 em camundongos. *Mem. Inst. Butantan* **25**:153-176, 1953.

13. *Bücherl, W.* — Dosagem comparada das atividades dos extratos glandulares e do veneno puro de *Phoneutria nigriventer*. *Mem. Inst. Butantan* **25**:1-22, 1953.

14. *Walckenaer, C. A.* — Hist. Nat. Inséct Aptères 1, Paris 1837, pgs. 360-372.

15. *Keyserling, E.* — Über amerikanische Spinnentiere der Unterordnung CITIGRADAE. *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien* **26**:609-708, 1877.

16. *Simon, E.* — Histoire Naturelle des Araignées 2, Paris 1897, pgs. 1-192.

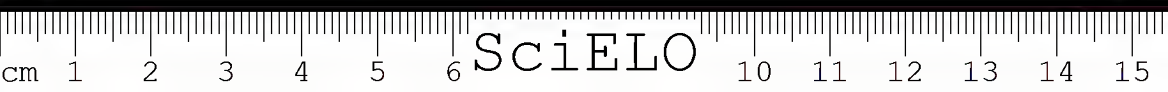
17. *Simon, E.* — ARANEAE 2. In Die Fauna Südwest Australiens 2(13):155-212, 1909.

18. *Petrunkevitch, A.* — Systema Aranearum. *Trans. Conn. Acad. Arts Sci.* **29**: 1-277, 1928.

19. *Mello-Leitão, C. de* — Une Araignée argentine type d'une sous famille nouvelle. *Physis* **17**:137, 1939.

20. *Pickard Cambridge, F.* — New species of spiders belonging to the genus *Ctenus* with suppl. notes. *An. Mag. Nat. Hist. ser.* **7**:407-408, 1902.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

ARANHAS DA FAMÍLIA *CTENIDAE*, SUBFAMÍLIA *PHONEUTRIINAE*

III. REDESCRIÇÃO DO MACHO DE *PHONEUTRIA FERA* PERTY, 1833 *

V. DESSIMONI von EICKSTEDT

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo

Até hoje, sòmente um macho de *Phoneutria fera* Perty, 1833 (1), o especimen de C. L. Koch, 1848 (2), foi descrito. Todos os outros exemplares-machos mencionados ou redescritos como pertencentes a esta espécie não eram amazônicos. O especimen de C. L. Koch fôra guardado em sua coleção particular e por consultas a colegas europeus, soubemos que provàvelmente deve estar perdido.

Por êstes motivos, tendo à nossa disposição um exemplar macho de *Phoneutria,* do Território do Rio Branco, próximo à Divisa do Brasil com a Venezuela, resolvemos descrevê-lo. Embora não esteja em bom estado de conservação para nos proporcionar detalhes sôbre o colorido, pudemos aferir diversas medidas e fornecer, pela primeira vez, vários esclarecimentos sôbre a sua morfologia externa, inclusive no que diz respeito ao bulbo copulador e à apófise tibial do palpo, caracteres específicos de importância fundamental na sistemática moderna.

Descrição

Medidas: (em mm)

Compr. total (com quel.):	27	Esterno:	5,5 x 5,0
Cefalotórax:	14 x 11,5	Lábio:	2,3 x 1,8

Pernas:

	Fêmur	Pa + Ti	Metat.	Tarso	Total
I	19	26	19	5	69
II	18	23	17	5	63
III	14	18	13	4,5	49,5
IV	19	22	22	6	69

Colorido — Como o exemplar em estudo está há muitos anos conservado em álcool damos, a seguir, a descrição do seu colorido atual: cefalotórax castanho-aver-

---

* Trabalho realizado sob os auspícios do F.P.I.B.

Recebido para publicação em 15 de março de 1968.

melhado, ornamentado por linhas escuras convergentes para a fóvea, revestido esparsamente por pêlos curtos amarelados e circundado por uma fímbria de longos pêlos flavos. Artículo basal das quelíceras castanho-escuro, revestido na frente por pêlos castanho-amarelados e com uma escópula de pêlos compridos, avermelhados, delimitando a margem superior do sulco ungueal. Pernas da mesma côr que o cefalotórax, munidas de longos pêlos amarelados no lado ventral. Tíbia e metade basal do tarso do palpo de colorido cinza-escuro, quase prêto, apresentando no lado dorsal, interno, uma faixa de pêlos esbranquiçados. Esterno e coxas das pernas castanho escuros, revestidos por pêlos curtos amarelados; na base das coxas, uma zona triangular mais clara. Lábio e lâminas maxilares da mesma côr que o esterno; ápice das lâminas maxilares com pêlos longos, amarelados. Nada se pode afirmar quanto à existência ou não de desenho ou manchas no dorso do abdomen; ventre com quatro filas longitudinais de sigilas, convergentes para as fiandeiras, delimitando um campo triangular.

Caracteres morfológicos — *Cefalotórax* mais longo que largo com fóvea longitudinal distinta. *Quelíceras*: margem inferior do sulco ungueal com 5 dentes, o basal muito pequeno e os outros quatro equidistantes e quase do mesmo tamanho; margem superior com três dentes, o médio, o maior. *Olhos*: ver Fig. 1. *Pernas*: Espinulação — tíbias I e II com 5 pares de espinhos ventrais, o último par apical (na tíbia II os espinhos de cada par não se conservam bem lado a lado) metatarsos I a III com 3 pares de espinhos ventrais, o IV com séries irregulares de numerosos espinhos. A espinulação dos demais segmentos é semelhante à descrita para a fêmea (3). Ao redor da inserção dos espinhos existem pêlos esbranquiçados. Escópula de pêlos revestindo tôda a extensão da face ventral dos tarsos I a IV, chegando até quase a base dos metatarsos I e II, revestindo a metade apical do metatarso III e ápice do metatarso IV. Longos pêlos amarelados em tôda a extensão da face ventral dos fêmures, patelas e tíbias I a IV, formando um tufo basal nos metatarsos I e II, presentes na metade basal do metatarso III e pràticamente em todo o metatarso IV. Tarsos com tufos subungueais e duas garras munidas de dois dentes grandes e um pequeno, seguidos ou não por uma fileira de dentículos; êles são curvos para baixo e dispostos em uma única fila (Fig. 2a, 2b). *Palpos*: com escópula anterior de pêlos cinza amarelados revestindo o têrço basal do tarso, tôda a tíbia, pràticamente ausente na patela e presente apenas nos dois têrços apicais do fêmur; tíbia cêrca de duas e meia vêzes mais longa que larga, com uma apófise lateral externa subapical em forma de gancho, curva para o lado ventral, pràticamente do mesmo tamanho que a largura da tíbia e que termina em ponta afilada, levemente achatada (Fig. 3). As estruturas do bulbo podem ser vistas na Fig. 4.

Material e procedência — macho, Exemplar n.° 1183, Coleção Aracnológica do Instituto Butantan, 1/VII/1952 — Território do Rio Branco, próximo à Divisa do Brasil com a Venezuela.

Diagnose diferencial: distingue-se do macho de *Phoneutria boliviensis* Cambridge, 1897 pelas estruturas do bulbo e da apófise tibial (4). Do macho de *Ctenus sus* Strand, 1910 (5), proveniente do Surinan e que, conforme Caporiacco já assinalara (6), deve pertencer ao gênero *Phoneutria*, distingue-se pela apófise tibial do palpo; segundo Strand ela apresenta dois ramos que aos poucos se fundem em um só.

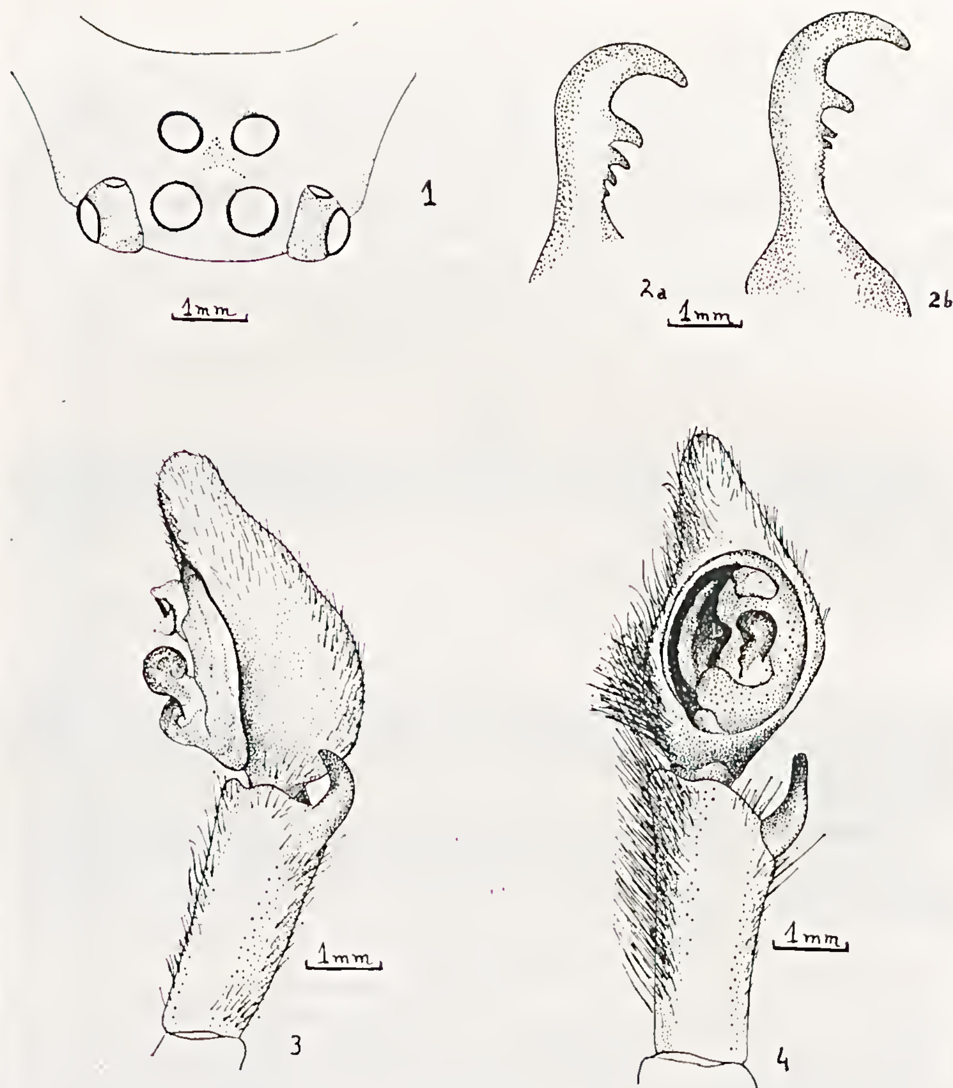


Fig. 1 — Grupo ocular do macho de *Phoneutria fera,* visto de cima, estando a aranha em posição vertical.

Fig. 2a, 2b — Garras tarsais vistas de perfil.

Fig. 3 — Tíbia e tarso do palpo esquerdo, vista lateral externa.

Fig. 4 — Tíbia e tarso do palpo esquerdo, vista ventral.

Discussão

Como a descrição do macho de *Phoneutria fera* feita por C. L. Koch em 1848 não fornece elementos realmente úteis à identificação dos machos dessa espécie e como o exemplar de Koch, muito provàvelmente, está perdido, é impossível, tendo apenas um exemplar à disposição, afirmar com certeza que o macho em estudo pertença de fato à espécie *fera*. Sòmente com maior quantidade de material (machos e fêmeas) da localidade típica das espécies de Perty, poderíamos confirmar ou não esta classificação. Apesar disso, a escassez de exemplares machos descritos dêsse gênero, até esta data, procedentes da região norte do Brasil e o fornecimento de dados de morfologia externa, principalmente no que diz respeito à estrutura do órgão copulador do macho, justificam o presente trabalho.

Resumo

É redescrito o macho de *Phoneutria fera* Perty, 1833 (ARANEAE, LABIDOGNATHA, CTENIDAE). O primeiro macho dessa espécie foi descrito por C. L. Koch, 1848. Após várias consultas, chegamos à conclusão de que êsse exemplar deve estar perdido.

Summary

The male of *Phoneutria fera* Perty, 1833 (ARANEAE, LABIDOGNATHA, CTENIDAE) is redescribed. The first male of this species was described by C. L. Koch, 1848. We are sure, after consultation of European colleagues that *P. fera* Koch's specimen as well as the *P. ochracea* type (probably a synonym of *fera*) must be considered lost.

Agradecimentos — Agradeço a W. Büeherl, ex-chefe da Secção de Artrópodos Peçonhentos a orientação dada na execução dêste trabalho e ao Sr. Klaus Stewien, bolsista do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan, a colaboração prestada.

Bibliografia

1. *Perty, M.* — *Delect. Anim. Artic.*, p. 197, 1833, Pl. 39, Fig. 3.

2. *Koch, C. L.* — *Die Arachniden*, **15**:60, 1848, Pl. DXX, Fig. 1459.

3. *Von Eickstedt, V. D.; Lucas, S.* e *Bücherl, W.* — Contribuição ao estudo de *Phoneutria fera* Perty, 1833. Revalidação e sinonimias de *Phoneutria rufibarbis*, 1833, *Mem. Inst. Butantan*, **34**:67, 1969.

4. *Cambridge, F. O. P.* — On Cteniform spiders from the Lower Amazons, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, **19** (Ser. 6):80, 1897, Pl. III, Figs. 3a, b, c.

5. *Strand, E.* — Neue oder wenig bekannte Sudamerikanische *Cupiennius* und *Ctenus* arten, *Zool. Jahr. Syst.* **28**:300, 1910.

6. *Caporiacco, L. di* — Arachnida of British Guiana, *Proc. Zool. Soc. London*, **118**(3):681, 1948.

ARANHAS DA FAMÍLIA CTENIDAE, SUBFAMÍLIA *PHONEUTRIINAE*

IV. CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA OOTECA, DOS OVOS, E A ECLOSÃO DA ARANHA ARMADEIRA — *PHONEUTRIA SP.* *

SYLVIA LUCAS

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil.

Em 1951 e 1952, Bücherl (1, 2) fez algumas anotações sôbre o acasalamento, a ooteca e o desenvolvimento de *Phoneutria fera* e *nigriventer*. Em 1957, Tretzel (3) publicou dados interessantes sôbre a criação e manutenção de *Phoneutria fera* em cativeiro.

Como nos laboratórios da Secção de Artrópodos Peçonhentos são mantidas vivas, anualmente, centenas de aranhas armadeiras para extração do seu veneno, achamos oportuno aproveitar êste material para um estudo mais detalhado sôbre a ooteca e o desenvolvimento embrionário.

Material e Método

Tivemos à disposição as aranhas enviadas por fornecedores, além de grande número de ootecas fixadas em álcool. Observamos a evolução de dezenas de ootecas, anualmente confeccionadas no cativeiro.

Através de uma pequena incisão num dos bordos da ooteca, retiramos embriões em diferentes fases de desenvolvimento e continuamos a observá-los dentro de pequenos tubos de vidro, envoltos em papel prêto tampados com algodão.

Apesar de que o fornecimento de aranhas armadeiras para o laboratório é ininterrupto, verificando-se durante todo o ano, nota-se uma maior freqüência nos meses de abril a agôsto, predominando inicialmente os machos adultos e surgindo as primeiras fêmeas com ootecas em meados de julho. Assim durante o ano de 1966 foram recebidas entre abril e agôsto 486 *Phoneutria* sp., enquanto que nos restantes meses do ano recebemos 259. Em 1967 recebemos 828 entre abril e agôsto e 340 nos meses restantes.

A *OOTECA*: confeccionada em laboratório como também na natureza, apresenta-se de cor branca. Não há uma camada externa mais escura, que a confunda com o meio, como é frequentemente observado entre aranhas caranguejeiras.

A sua confecção se dá durante a noite e a mãe fixa-a num substrato. Em cativeiro observa-se muitas vêzes que a ooteca é afixada ao vidro que serve de tampa para a gaiola. Não há, portanto, receio de expô-la a uma maior intensidade luminosa.

Recebido para publicação em 15 de março de 1968.
* Trabalho realizado sob os auspícios do F.P.I.B.

A mãe cuida da ooteca cobrindo-a parcialmente com o esterno e repousando os palpos e os dois primeiros pares de pernas sôbre ela. Eventualmente o terceiro e o quarto par de pernas também podem colaborar. Sentindo-se perturbada procura defender ferozmente a ooteca, despregando-a mesmo de seu substrato para afixá-la em outro ou segurando-a prêsa entre as quelíceras, junto ao corpo. Quando se isola a mãe, ao retornar, logo volta a procurar a sua ooteca. Retirando-se a ooteca e devolvendo-a mais tarde a mãe também a aceita sem maiores problemas.

Cada aranha faz e cuida sòmente de uma ooteca por vêz. Excepcionalmente aceita além da sua própria uma outra, que rejeita porém mais tarde.

Raros são os casos de abandono da ooteca. Geralmente isso ocorre quando a mãe morre. A aranha não aceita alimento, de modo geral, quando está cuidando de sua ooteca. Sòmente a deixa por alguns segundos para beber água, que nunca deve faltar no viveiro. Às vêzes devido ao estado de inanição não consegue cuidar da ooteca até a eclosão dos filhotes.

Há também parasitas que atacam a ooteca, alimentando-se tanto de ovos em início de desenvolvimento como também de aranhas prestes a eclodir. Resta, ao final, apenas um pó muito fino e a mãe termina por abandoná-la. Outras

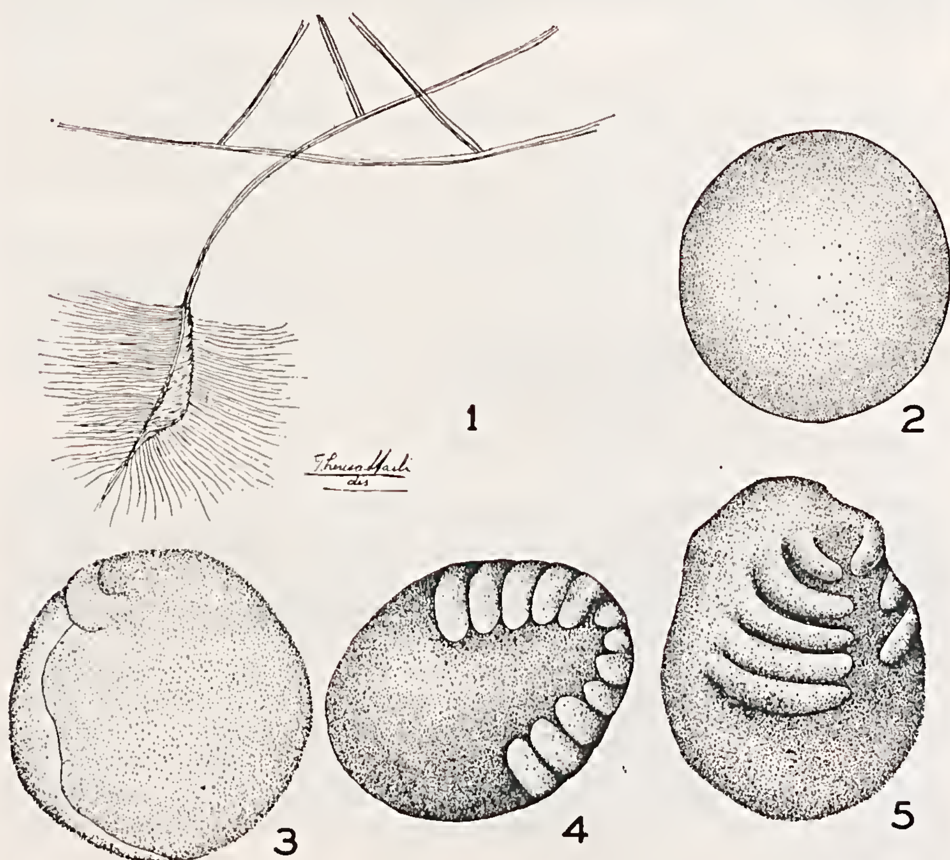


Fig. 1 — "Ventosa", detalhe de um fio de fixação.
Fig. 2 — Ovo de *Phoneutria sp.*
Fig. 3 a 9 — Diversas fases de desenvolvimento do embrião.

vêzes os ovos não se desenvolvem. Aglutinam-se numa região da ooteca e tornam-se duros e de côr amarelo forte.

A fixação da ooteca no substrato se dá por meio de inúmeros fios que se fixam no substrato através de uma espécie de "ventosa". Cada fio, realmente, é constituído de inúmeros, a "ventosa" é formada pelo fio múltiplo que termina espessado e do qual partem para ambos os lados inúmeros fios curtos (Fig. 1). Estas "ventosas" aderem fortemente ao substrato e mesmo depois de retirada a ooteca elas permanecem no local. Assim, fàcilmente pode-se identificar o local onde havia sido fixada uma ooteca.

A ooteca é formada por dois "pratos", um, inferior, achatado, que adere perfeitamente ao substrato e o outro, superior, que serve de tampa. Ambos estão fortemente unidos na linha equatorial. Cada "prato" é formado por duas camadas de tecido diferente. A externa é constituída de fios densos, serve para proteger a ooteca, isolando-a do meio ambiente. A outra, interna, é formada de fios frouxamente entrelaçados semelhante a uma camada de algodão. Conforme a ooteca esta camada é constituída apenas por fios formando uma rede em cima dos ovos, ou é bem espessa. Protege os ovos contra choques e os mantem no seu lugar.

O tamanho das ootecas varia. As confeccionadas em julho, agôsto, isto é no início do período, são grandes atingindo em média cêrca de 35 mm de diâmetro. As últimas, confeccionadas em fevereiro e início de março são pequenas raramente ultrapassando 25 mm de diâmetro.

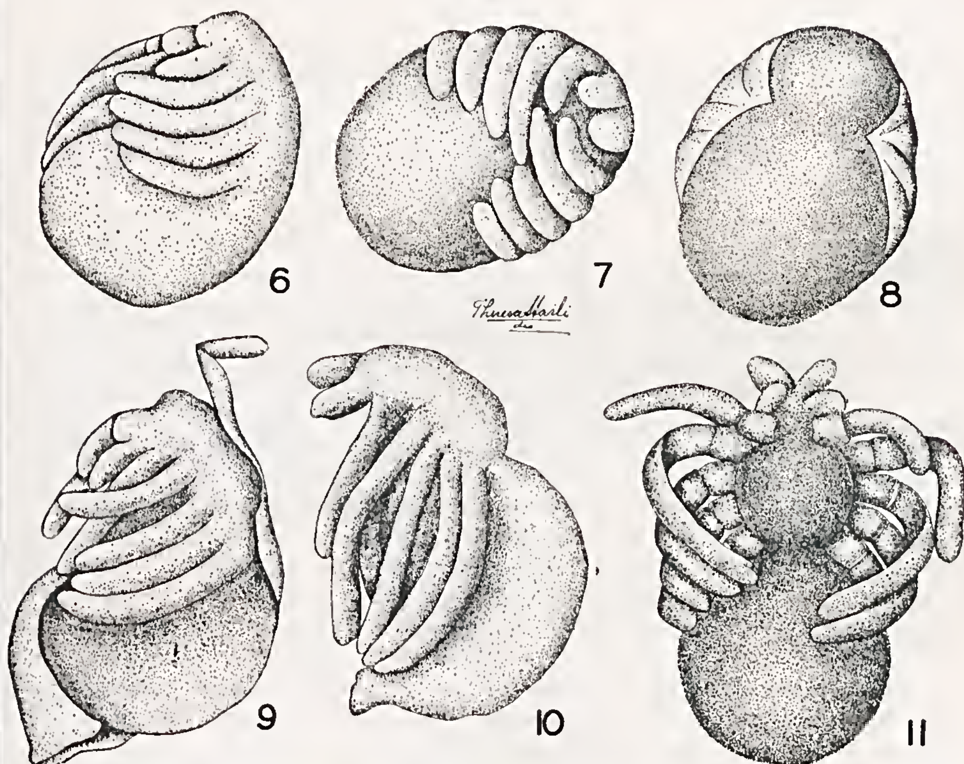


Fig. 10 — Aranha recém eclodida do corion, vista lateral.
Fig. 11 — Aranha recém eclodida do corion, vista ventral.

Os OVOS estão dispostos dentro da ooteca lado a lado e em camadas, sem porém obedecerem a uma orientação determinada. Medem de 1,2 a 1,5 mm de diâmetro e são redondos, de cor amarelo esbranquiçada (Fig. 2). Seu número varia conforme as dimensões da ooteca, sem contudo se poder estabelecer um critério rígido. De modo geral, ootecas grandes tem maior número de ovos do que as menores.

Diâmetro da ooteca — mm	11	12	16	19	20	21	21	24	30	31	32	38
Número de ovos	347	145	418	664	376	1073	1122	211	678	1482	1308	1677

O desenvolvimento embrionário é rápido. Pode-se acompanhar as diversas fases de desenvolvimento retirando-se, periòdicamente, embriões de dentro da ooteca. Simultâneamente podem-se também observar várias fases dentro de uma mesma ooteca. Assim, ao lado de embriões bem evoluídos, há ovos ainda em início de desenvolvimento (Figs. 3, 8).

Cêrca de 20 dias após a confecção da ooteca as aranhas começam a nascer, isto é, irrompem pelo corion. Êste, ao final do desenvolvimento, é uma cutícula delgada, transparente, que se rompe a altura das quelíceras da aranha. Abre-se uma tampa e libertam-se o cefalotórax e os dois primeiros pares de pernas, além dos palpos. O corion através de movimentos lentos da própria aranha é empurrado para trás em direção à ponta do abdomen. Saem depois as pernas posteriores e finalmente o corion permanece preso apenas à ponta do abdomen e termina por cair (Figs. 9, 10 e 11).

Nem o filhote recém nascido, nem a mãe se alimentam do corion. Êste seca, fica cada vez mais enrugado e adquire cor branca opaca e fica dentro da ooteca.

A aranha recém nascida é muito frágil. Permanece semidobrada como se ainda estivesse envolta pelo corion. Seus movimentos são lentos e raros. As pernas ficam dobradas sôbre o abdomen, assim como também o cefalotórax. Lentamente procura desdobrar-se. As pernas dobram-se e novamente esticam-se, as quelíceras abrem-se e fecham-se. A aranha é muito sensível à luz. Quando retirada, nesta fase, de dentro da ooteca, para mantê-la viva é necessário colocá-la em ambiente escuro. Não pode caminhar pois não coordena seus movimentos. As fiandeiras não podem emitir fio. Tôda aranha tem cor branco amarelada e é semi transparente. Não apresenta pigmentação e nem pêlos revestindo o corpo e as pernas. Os olhos estão esboçados sob forma de manchas mais brancas e a disposição corresponde à fórmula ocular das aranhas adultas. O cefalotórax, por transparência deixa ver parte do sistema nervoso. No esterno, também por transparência, observa-se a musculatura que movimenta as extremidades. As pernas são transparentes mas já existe a divisão em artículos, apesar de que a separação entre tíbia e patela, e metatarso e tarso não é muito nítida. As quelíceras apresentam uma pequena garra terminal. Os pulmões aparecem sob forma de duas manchas brancas e não há indício de fenda genital. As fiandeiras formam uma protuberância na ponta do abdomen, podendo-se ver, por transparência, os três pares. O abdomen está repleto de gema nutritiva (Fig. 10).

Com o passar dos dias a aranha torna-se mais ágil nos seus movimentos e perde um pouco seu aspecto transparente. Após cêrca de sete dias muda pela primeira vez de pele, dentro da própria ooteca.

Após a primeira muda, a aranha, apesar de ainda permanecer protegida, dentro da ooteca, apresenta maior mobilidade e suas fiandeiras já são capazes de



emitir fios. A transparência da aranha desaparece, e surge um leve revestimento piloso, tanto nas pernas como no corpo. Com o passar dos dias a aranha torna-se cada vêz mais acinzentada, principalmente as pernas e o cefalotórax e aparece um desenho no abdomen. Os olhos ficam com o aspecto do dos adultos apesar de que são relativamente maiores, ocupando tôda fronte do cefalotórax.

Uma semana depois os filhotes começam a sair da ooteca. A mãe ajuda a abri-la, mordendo num dos bordos fazendo uma pequena abertura. Esta ajuda da mãe é necessária. Os filhotes saem em geral durante a noite. Agrupam-se perto da mãe e permanecem quase imóveis na teia que êles próprios constroem. Não procuram alimento. Seu abdomen ainda está cheio de gema. Dois a três dias após a eclosão manifesta-se um geotropismo negativo, os filhotes constroem uma teia semelhante a um véu e procuram localizar-se no alto do viveiro, mudam pela segunda vez de pele e procuram se dispersar.

A mãe termina por abandonar a ooteca onde restam apenas o corion, a primeira exúvia e algumas aranhas mortas e ovos que não se desenvolveram.

Resumo

Nêste trabalho é feito um estudo da ooteca, dos ovos e do desenvolvimento embrionário de *Phoneutria sp.*, da família CTENIDAE, sub-família PHONEUTRIINAE.

Summary

This work is a study about the egg sac, the eggs and the embrionary development of *Phoneutria sp.*, family CTENIDAE, subfamily PHONEUTRIINAE.

AGRADECIMENTOS — Agradecemos ao Dr. Wolfgang Bücherl pela orientação dada e a Laurinda Caly pela cooperação prestada durante a criação das aranhas. A Theresa Sarli agradecemos a feitura das ilustrações.

Bibliografia

1. *Bücherl, W.* — Estudos sôbre a biologia e a sistemática do gênero *Grammostola* Simon, 1892. *Mon. Inst. Butantan* (1), 1951.

2. *Bücherl, W.* — Brutfürsorge und Brutpflege bei einigen brasilianischen Spinnen, Trans. Internat. Congress Entomol., Amsterdam, 1:1091-1092, 1952.

3. *Tretzel, E.* — Haltung, Zucht und Entwicklung von *Phoneutria fera* (Perty) und anderen Spinnen, *Zool. Garten*, 23:74-110, 1957.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15

ARANHAS DA FAMÍLIA *CTENIDAE*, SUBFAMÍLIA *PHONEUTRIINAE*

V. A SEGUNDA FILA OCULAR EM *PHONEUTRIA* PERTY, 1833 *

V. DESSIMONI von EICKSTEDT e WOLFGANG BÜCHERL **

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Nêste trabalho é feito um estudo morfológico comparativo dos olhos, principalmente da segunda fila ocular da aranha *Phoneutria* Perty, 1833. O autor do gênero e das duas primeiras espécies, *rufibarbis* e *fera*, omitiu no desenho de *rufibarbis*, os olhos laterais anteriores e em *fera*, desenhou a segunda fila muito recurva (1). O primeiro revisor do gênero, F. O. P. Cambridge (2), em 1897, em face dêsses desenhos, declarou a *rufibarbis* como "forma ignota", designou *fera* como tipo do gênero e afirmou que, baseando-se na descrição sumária e nos desenhos de Perty, o gênero *Phoneutria* só poderia ser separado de *Ctenus* pela disposição dos olhos da segunda fila (reta ou procurva em *Ctenus* e recurva em *Phoneutria*) Strand (3), em 1917, reexaminou o exemplar tipo de *fera*, etiquetado pelo próprio Perty, exemplar êste que, inexplicàvelmente, veio parar no Museu de Berlim e constatou que o campo ocular do espécimen estava parcialmente lesado, o que contribuiu para o deslocamento dos olhos do lado esquerdo, enquanto que do lado direito a segunda fila era, na realidade, ligeiramente recurva e não fortemente recurva como Perty, exageradamente, a representou. Assinalou não ser possível diferenciar *Ctenus* de *Phoneutria* baseando-se ùnicamente na disposição ocular, pois, examinando vários exemplares de *Ctenus* constatou ligeiras variações da segunda fila de olhos: desde ligeiramente procurva até ligeiramente recurva. Afirma ainda que os demais caracteres morfológicos do exemplar de Perty são semelhantes aos de *Ctenus*, não vendo, por isso, razão em separar os dois gêneros. Estudos posteriores (4, 5) permitiram o reconhecimento de caracteres que possibilitam essa diferenciação. Como Strand observou os olhos de apenas um exemplar de *Phoneutria*, achamos interessante pesquisar, em vários exemplares de uma mesma espécie dêsse gênero, a variação existente no tocante à segunda fila de olhos, já que, por muito tempo, êsse assunto foi alvo de intensa polêmica entre os aracnólogos.

Material e Método

Foram estudados 50 exemplares de *Phoneutria*, procedentes dos arredores da cidade de São Paulo e pertencentes todos a 1 só espécie. As observações foram feitas com auxílio de lupa estereoscópica. A segunda fila ocular é dita *procurva* tôda vez que, traçando-se imaginàriamente, uma reta tangente à margem

* Trabalho realizado sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.
** Bolsista do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.
Recebido para publicação em 15 de março de 1968.

anterior dos dois olhos medianos posteriores, o prolongamento dela cortar os olhos laterais da mesma fila; *reta,* quando êsse prolongamento também fôr tangente à margem anterior dos laterais e *recurva* tôda vez em que êsse prolongamento passar adiante da margem anterior dos olhos laterais.

Resultados

O número de exemplares observados foi suficiente para mostrar a grande variabilidade existente em relação à segunda fila ocular. Conforme a posição em que se segura a aranha, num mesmo exemplar ela pode se apresentar procurva, reta e até mesmo levemente recurva. Note-se também que, freqüentemente, ocorre assimetria quanto à posição dos olhos laterais de um e outro lados, resultando que uma metade da linha pode ser reta, por exemplo, e a outra ser procurva.

Num dos exemplares estudados foi verificado que, segurando-se a aranha em posição vertical e observando-se os olhos de cima, a segunda fila apresentava-se reta de um lado e levemente recurva do outro. Inclinando-se um pouco a aranha para trás, mas mantendo-a ainda na posição vertical, a metade reta da linha passava a levemente procurva e a metade levemente recurva passava a reta e até mesmo a levemente procurva, se a inclinação fôsse um pouco maior. Segurando-se a aranha de perfil, a segunda fila ocular apresentava-se nìtidamente procurva e, quando a aranha era observada pelo lado dorsal com o cefalotórax ligeiramente inclinado para cima, a linha mostrava-se ligeiramente recurva. Pode existir, portanto, uma pluralidade de interpretações diferentes em decorrência do modo de segurar a aranha (Fig. 1 e 4).

Para obter-se um desenho que mostre a exata posição relativa dos olhos de *Phoneutria*, é necessário segurar a aranha em posição bem vertical, de tal forma que o plano dos olhos da aranha seja paralelo ao plano dos olhos do observador, isto é, que o clípeo esteja em posição horizontal. Nessa posição, vêem-se quase num mesmo plano, os dois olhos medianos anteriores e os quatro olhos da segunda fila; os dois olhos laterais posteriores ficam num plano diferente, pois estão situados um pouco mais para trás, mas, para desenhá-los não se deve mudar a posição da aranha a fim de não causar distorsões na representação dos olhos.

Observando-se a segunda fila ocular de vários exemplares de *Phoneutria*, *sempre do mesmo modo,* (clípeo horizontal), encontramos as três modalidades possíveis: de 50 aranhas examinadas, 22 apresentaram-se com segunda fila ocular ligeiramente procurva, 17 com segunda fila ligeiramente recurva e 11 com segunda fila pràticamente reta (Fig. 1 a 3).

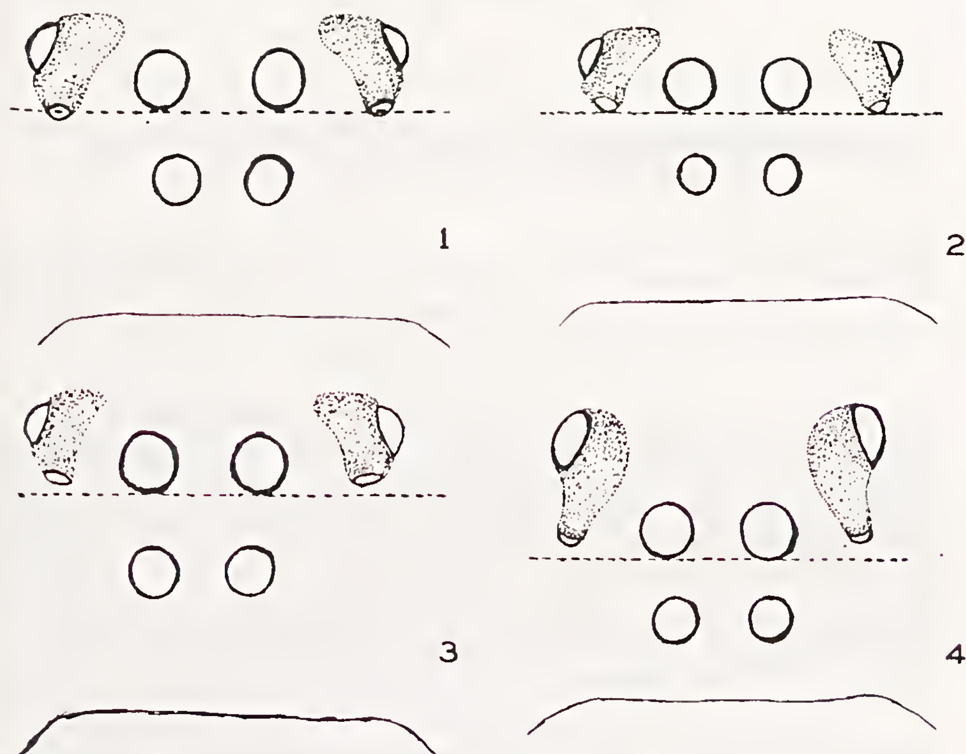
Conclusão

Em face dos resultados obtidos, conclui-se que, no gênero *Phoneutria*, a disposição dos olhos da segunda fila ocular é caráter muito variável, mesmo dentro de uma mesma espécie e, portanto, não pode ser usado para caracterizar nem espécie nem gênero.

Resumo

É feito um estudo da variação da segunda fila ocular da aranha *Phoneutria*, mostrando não ser possível considerá-la caráter específico ou genérico.





Figs. 1, 2 e 3 — Olhos de três aranhas de uma mesma espécie de *Phoneutria*, estando os exemplares em posição vertical, vendo-se os olhos de cima. Fig. 1 — segunda fila ocular procurva. Fig. 2 — segunda fila ocular reta. Fig. 3 — segunda fila ocular recurva.

Fig. 4 — Olhos do mesmo exemplar utilizado para a Fig. 1, estando a aranha em posição horizontal com o céfalotórax inclinado de 45º em direção ao observador. A segunda fila ocular mostra-se recurva.

Summary

This is a study on the variation of the second ocular row of the spider *Phoneutria*, showing that it is impossible to consider it as a specific or generic character.

Bibliografia

1. *Perty, M.* — Delect. Anim. Artic., 1833, prancha 39, figs. 2 e 3.

2. *Cambridge, F. O. P.* — On Cteniform Spiders from the Lower Amazons, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, Ser. 6, **19**:58-60, 1897.

3. *Strand, E.* — Arachnologia varia. *Arch. Naturges.*, 82A(2):72, 1917.

4. *Mello-Leitão* — Contribution à l'Étude des Ctenides du Brésil. *Festschr. Strand*, 1:18, 1936.

5. *Bücherl, W., Lucas, S. e Dessimoni, V.* — Redescrição dos gêneros *Ctenus* Walckenaer, 1805 e *Phoneutria* Perty, 1833, *Mem. Inst. Butantan*, **31**:95, 1964.


cm 1 2 3 4 5 SciELO 9 10 11 12 13 14

SPIDERS OF THE FAMILY *CTENIDAE*, SUBFAMILY *PHONEUTRIINAE* VI. BIBLIOGRAPHIA PHONEUTRIARUM

WOLFGANG BÜCHERL *, SYLVIA LUCAS and VERA DESSIMONI von EICKSTEDT

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil.

The *Bibliographia Phoneutriarum* contains: 1. References to all original descriptions of species, with their primary synonyms, including the sex, type-locality, range of the species, and the deposition of the type specimen (when known); 2 The most important topics of the original descriptions in the languages of authors; 3. Only for the first time we cited behind the author's name and the publication's date the full title of the publication and the periodic in which it has appeared.

Petrunkevitch's (1911), Roewer's (1954), and Bonnet's (1958) general spider-catalogues dealing with *Phoneutria* (the last one) or with *Phoneutria* but sub *Ctenus* (the first two) are frequently cited in the checklist and the bibliography.

The validity of all nominal species of *Phoneutria* is not questioned here.

Phoneutria Perty 1833 — Bras. Spinnen, in C. F. Ph. de Martius (Editor), Delectus Animalium..., Monachii, 1834, pp. 196-197; Pl. 39, Fig. 3. Character Essentialis: oculi 8, subaequales: 4 antice in quadratum positi, postice utrinque 2, fere inter se contingentes. Pedes elongati: illi paris primi et quarti longitudine fere aequales, pedes paris tertii inter omnes brevissimi. Labium rotundatum. Character Naturalis: oculi 8, subaequales: 4 minores antici in quadratum positi, postice utrinque 2 parum maiores per paria valde remoti, inter se fere contingentes. Palpi subfiliformes, apicem versus paulo crassiores. Chelicornua stipite crasso robusto, unguibus paene decussatis. Maxillae ad apicem subtrigonae. Labium rotundatum. Cephalothorax antrorsum coarctatus, postice rotundatus. Abdomen ovatum. Pedes elongati: illi paris primi et quarti longitudine fere aequales, paris secundi praecedentibus breviores, paris tertii inter omnes brevissimi; omnes tarsis attenuatis. "Phoneutria" significat interfectrix, peremptrix. Genus *Lycosae* proximum, a qua vero notis sufficientibus differt. Praeter species hic descriptas adhuc plures novi, omnes Americas Meridionalis indigenas, staturas grandis.

Type — species *Phoneutria fera* Perty, by subsequent selection by F. O. Pickard-Cambridge 1897 — *Ann. Mag. Nat. Hist.* (6) 19, pg. 59: "... and I therefore select *P. fera* Perty as the type of the genus *Phoneutria*..., one is compelled to regard it as a "forma ignota", though its generic relations are certain so far as the eye-formula is concerned...", and by E. Strand 1917 — Arachnol. varia 16, *Arch. Naturg. 82* A(2), pp. 72-73: "Es liegen mir einige trockene Exemplare von Spinnen vor, die mit Perty's Handschrift "Brasília" etikettiert sind, und die ich für Perty'sche Typen halte, trotzdem leider keine Namenetiketten daran

* Granted by the Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.
Received for publication in march 18, 1968.

stecken; wahrscheinlich sind die Etiketten nicht an, sondern neben der Nadel des Tieres eingesteckt gewesen und sind dann nachher verloren gegangen, während die an der Nadel steckenden Lokalitaetsetiketten noch vorhanden sind. Von *Ctenus* findet sich nur Cephalothorax mit Extremitäten eines einzigen Exemplares, das die Type (wenn überhaupt eine solche) von *Phoneutria fera* sein muss, da die dunkelbraune Behaarung der Mandibeln sofort zeigt, dass es *P. rufibarbis* unmöglich sein kann."

Gervais, P. 1840, *Dic. Sci. Nat. Suppl.* 1, p. 307; Erichson, G. F. 1845, Nom. syst. gen. Arachnid, in L. Agassiz, Nomencl. zool., Soloduri, p. 10; Agassiz, L. 1848, Nomencl. zool. Soloduri, p. 828; Koch, C. L. 1848, Die Arachniden, Nürnberg, p. 101, and 1851, Übersicht d. Arachnidensyst. 5, Nürnberg, p. 36; Simon, E. 1864, Hist. Nat. Araign. I, p. 377; Karsch, F. 1879, Westafrik. Arachn., *Zeitschr. ges. Naturw. 52*, p. 344; Keyserling, E. 1881, Neue Spinn. aus Amerika II., *Verh. zool. bot. Ges. Wien 30*, p. 575; Scudder, S. H. 1882, Nomencl. zool. Washington, and *Bull, U. S. Nat. Museum, 19*; Pickard-Cambridge, F. O. 1897; Scherborn, C. D. 1922, Index Animalium..., London, p. 4923; 1932. p. 829; Petrunkevitch, A. 1928, Syst. Aranear., *Trans. Conn. Acad. Arts Sci. 29*, p. 241; Mello-Leitão, C. de 1936, Contr. à l'etude des Cténides du Brésil, *Festschr. E. Strand 1*, pgs. 2, 14; Neave, S. A., 1939, Nomencl. zool. London, p. 725; Bonnet, P. 1958, Bibl. Ar. II, p. 3619; Bücherl, W., Lucas, S. and Dessimoni, V. 1964, Redescrição dos gêneros *Ctenus* e *Phoneutria*, *Mem. Inst. Butantan 31*, pgs. 95-102.

Ctenus: Walckenaer, C. A. 1837, Hist. Natur. des Ins. Aptéres, Paris, pgs. 369-370; Simon, E. 1864, p. 478; 1897, Hist. Nat. des Araign. II, Paris, pgs. 108-111; Keyserling, E. 1891, Spinn. Amerikas, Bras. Spinn., Nürnberg, 3, pgs. 144-145; Pickard-Cambridge, F. 1897, On Cteniform Spid. from the Lower Amazons... *Ann. Mag. Nat. Hist.* (6) *19*, pgs. 78-79; 1898, On the Cteniform Spiders... *Proc. zool. Soc.* London, p. 18; Strand, E. 1907, Über drei Clubioniden... *Zeitschr. Naturw. 79*, p. 425; Petrunkevitch, A. 1911, Synonymic Ind. Catalogue..., *Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 29*, p. 471; Mello-Leitão, C. de 1917, Notas Aracnol., *Broteria 15*, p. 97; Novas Club. do Brasil, *Arch. Esc. Sup. Agr. med. Vet. 6*, p. 41; Aracnídeos de Sta. Catarina, *Rev. Mus. Paul. 15*, pgs. 397-403; Roewer, C. F. 1954, Katalog der Araneae 2, Abt. a, Bruxelles, pgs. 638-639.

1. *Phoneutria andrewsi* (Pickard-Cambridge, F. O.)

Ctenus andrewsi Pickard-Cambridge, F. O. 1897, On Cteniform spiders from the lower Amazons. pgs. 79-80 Pl. III Fig. 2 e; "*Hab.* Santarém and Pará Forest. *Type* in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London. Female. Length 32 mm. Colour the same as in *reidyi*, except that the abdomen has a dorsal series of three conspicuous and three smaller and less conspicuous spots on each side of the central line. *Vulva* longer in proportion to its breadth. Lateral curved side-pieces absent, their place taken by a black tubercle surmounted by sharp black spur. *Measurement in millim.* Tot. len. 32, carp. 12,25; legs I — 56, II — 51,5, III — 42,5, IV — 56; pat. + tib. I — 20, IV — 16, III — 12,25. Two females were taken from the hollow stem of a decayed palm-tree in the forest close to Pará, near the Casa da Olaria. Both of them had a large dull white egg-sac attached to the inner surface of the hollow stem. This form is evidently very closely allied to *reidyi*, but, seeing that the two specimens from Pará were evidently fully adult, the differences are not merely those due to immaturity, as one would have otherwise suspected. I shall be surprised if fresh material does not confirm the specific differences between the two forms, though it is never safe to prophecy without being in possession of the facts. A third example was taken in the forest near Santarém,

wandering about some wooden palings close to the "Sitio Andirobal". These huge spiders are evidently nocturnal in their habits, the last mentioned specimen having been disturbed from its hiding-place; P. Cambridge, F. O. 1902, New species of Spiders belonging to the genus *Ctenus*, with supplementary Notes, *Ann. Mag. Nat. Hist.* Série 9 (7), pgs. 409-412; Petrunkevitch 1911, p. 471; Strand, 1915, *Archiv. f. Naturg.* A9, pg. 129; Vellard, J. 1936, Le venin des Araign. Paris, p. 173; Roewer, F. 1954, p. 647.

Phoneutria andrewsi Mello-Leitão, C. de — 1936, p. 15: "Nós vimos uma fêmea do Alto Juruá: compr. tot. 32 mm; pernas: 46 — 41,5 — 34,5 — 44,5; pat. + tíb. I — 18,5; II — 16; III — 13; IV — 15; metat. I — 11; II — 10; III — 8; IV — 13,5 mm. Pêlos das quelíceras róseos; tíbia dos palpos marron com duas linhas cinzentas; dorso do abdomen com quatro pontos vermelho-escuros; tíbias com longos pêlos".

2. *Phoneutria boliviensis* (Pickard-Cambridge, F. O.)

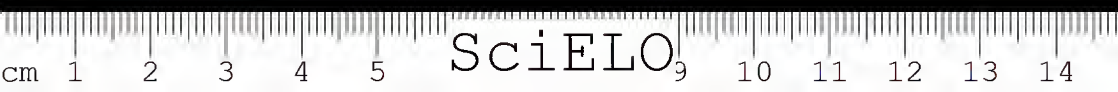
Ctenus boliviensis Pickard-Cambridge, F. O. 1897, *Ann. Mag. Nat. Hist. 19* (6), pgs. 80-81; Pl. III, 3 a-c: "Male and female. *Hab.* Bolivia. *Types* in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London, 1896. Male: total length, including mandibles, 34 mm; female 40 mm. Male-colour: carapace, legs and sternum very dark red-brown mahogany, clothed with dull yellow-brown pubescence. Abdomen brown, clothed with yellow-brown pubescence. Legs clothed beneath with thick yellowish hair. Female: colour similar to that of the male, but darker. Abdomen with broad central scalloped pale band and two or three oblique lateral bands of pale spots extending down the sides, while the integuments have been denuded of pubescence. Pedipalps without pale lines in front. Mandibles clothed at apex with dull orange hairs. Male: *structure* - carapace, profile almost straight. Eye-formula similar to that of *reidyi* and *andrewsi.* Lateral eyes on a distinct tubercle; second row straight by anterior margins. Ocular quadrangle slightly longer than broad, scarcely narrowed in front. Armature of legs similar in both sexes to that of *reidyi.* Lower margin of fang-groove with 5 teeth, upper with 3. Tarsal claws 2, with 4 curved denticules. Clawtuft present. Scopula thick on protarsi and tarsi I and II, slighter on protarsus III, and absent on that of IV. Tibia of pedipalp furnished with a very thick scopula, and its apex on outer side armed with a very stout, curved, chisel-headed spur. For palpal organs see Pl. III, fig. 3, a, b, c. Female: *structure* similar to that of the male. The vulva was so damaged that no satisfactory figure can be made of it. It is, however, similar in general character to those of *keyserlingi* and *nigriventer.*

Measurements in millim. — Tot. len. 41, carap. 16,75; legs I — 65; II —?; III — ?; IV — 64. These, the largest species of the genus I have met with (except *reidyi*), were taken by Herr Rolle at "Madre de Dios (Bolivia). They are allied to *reidyi,* but have not the pale lines on the palps (female), nor is the hair on the mandible of so bright an orange".

Strand, E. 1907 — Über drei Clubioniden und eine Pisauride von Sorata in den Cordilleren. *Zeitschr. Naturw. 79,* pgs. 426-427: "*Ctenus boliviensis* F. Cambr. 1897 — Günther leg. Museum Lübeck. Weibchen: Totallänge 39 mm. Cephalth. 17,5 mm lang, 13,5 mm breit, am Clypeus 7-8 mm breit. Abdomen 19 mm lang, 14 mm breit. Mandibeln 8,5 mm lang, an der Basis 6,5 mm breit. Palpen: Fem. 7, Pat. 3,5, Tib. 4,8, Tars. 5,6 mm, zusammen 20,9 mm. Beine: I — Fem. 16, Pat. 7,5 Tib. 16.2, Metat. 14,5. Tars. 4,5 mm; II — bezw. 15; 7,2; 14,2; 13; 4,5 mm; III — 12,5; 6; 10; 10,5; 4,3 mm; IV — 15,5; 6,2; 13;

17; 4,5 mm. Totall: I — 58,7; II — 53,9; III — 43,3; IV — 56,2 mm. Epigyne 2,8 mm lang, grösste Breite (über die Seitenfortsätze) 2,9 mm, Breite des Endstückes 2 mm, grösste Breite des Mittel (Vor) stückes 1,9 mm, Länge desselben 1,7 mm. Sie besteht aus einem dunkelbraunen, an den Seiten senkrechten, oben mitten der Länge nach eingesenkten, an den Seiten, insbesondere hinten, wulstartig verdickten, nach vorne verschmälertem Mittelstück, das sich vorn in einen ganz kurzen, grob gekörnelten "Hals" verlängert, hinten plötzlich niedergedrückt ist und unmittelbar vor dieser Einsenkung eine kleine mittlere Erhöhung zeigt; das beiderseits gerundete, hinten quergeschnittene, doppelt so breites als langes Endstück ist durch eine fein erhöhte Querleiste von dem Mittelstücke getrennt; die Seitenwülste des letzteren glatt, glänzend, sonst das Ganze fein gestreift nnd matt. In Flüssigkeit erscheint das Mittelstück an den Seiten schwarz, sonst dunkelrot, das Endstück braun, die Seitenfortsätze schwarz. Letztere bilden zwei nach hinten leicht konvergierende, dicke, schräg nach hinten gerichtete, am Ende horizontal abgeschnittene, also an der hinteren Ecke spitze, an der vorderen stumpfe Längsplatten, deren Spitze im Niveau mit den Seitenwülsten des Mittelstückes gelegen ist; eine die beiden Fortsätze hinten tangierende Gerade würde mit der das Mittel — und Endstück trennenden Leiste zusammenfallen. Von vorne gesehen erscheinen die Seitenfortsätze als zwei etwa parallelgerichtete, vom Mittelstück um mehr ihre Breite entfernte, nach aussen stark konvex gebogene Längsleisten, die von vorn nach hinten allmählich ansteigen.

F. Cambridge's Bestimmungstabellen der neotropischen *Ctenus*-Arten (1897) führen auf *Ct. reidyi;* unsere Art unterscheidet sich aber von dieser ausser durch die Epigyne noch durch den rötlichbraunen, vorn am stärksten verdunkelten Cephalothorax, Abdomen ebenfalls im Grunde dunkelbraun mit kaum merklich helleren Flecken, die eine Längsreihe von vier quergestellten, dreieckigen Doppelflecken bilden. Behaarung der Mandibeln in der Basal-hälfte aus schwarzbraunen, nur an der Spitze gelblichen Haaren bestehend; Lippenteil und Palpencoxen dunkelbraun, schwarz behaart, auch ersterer an der Spitze rötlich behaart. Die ganzen Beine im Grunde rötlichbraun, schwach violettlich glänzend, Femoren I und II unten in der Endhälfte schwärzlich, unten innen in der Basalhälfte lebhaft ockergelb behaart; Behaarung der Tibien unten olivenfarbig dunkelgrau, Scopula grauschwarz bis rein schwarz; Oberseite aller Glieder rost-rotbraun, goldig schimmernd behaart; an der Basis aller Stacheln ein kleiner weisslicher Haarfleck. Unten am Gelenke zwischen Tibien und Metatarsen einige ockergelbe Haare. Hinterbeine unten mehr einfarbig, trübgelblich bis braungelblich behaart, die Scopula heller als an den Vorderpaaren. Palpenfemoren oben an der Spitze und die Patellen wie die Oberseite der Beine, erstere aussen gelblich behaart, Scopula dunkelgrau; Tibial- und Tarsalglied wie bei *reidyi;* die helleren Längslinien erscheinen trocken gesehen weisslich und erstrecken sich am Tarsalglied nur über die 2 basalen Drittel. Tibia I etwa bis zur Mitte scopuliert, II nicht so weit, aber beide unten mit dichter, fast scopulaähnlicher Behaarung. Metatarsen III nicht ganz bis zur Basis, IV im apikalen Drittel scopuliert; Tibien und Metatarsen III und IV länger behaart als I — II. Behaarung des Cephalothorax aus feinen anliegenden rostbraunen und darunter gemischten weissen Haaren, sowie, jedenfalls hinten, mit unter sich entfernt stehenden, längeren hellgelblichen, abstehenden Haaren. Abdomen mit rötlichbraunen, am Ende weisslichen bis gelblichen Haaren unten wie oben bekleidet. Vordere S.A. um reichlich ihren Durchmesser von den hinteren entfernt; vordere M.A. unter sich um erheblich weniger, von den hinteren M.A. fast um ihren Durchmesser entfernt. Sonst Augen wie bei *reidyi*. *Bestachelung*: Femoren I- oben 1-1-1, vorn in der Endhälfte 1-1, hinten 1-1-1-1; II — III: oben 1-1-1, vorn und hinten je 1-1-1-1, IV: oben 1-1-1, hinten an der Spitze 1-1 Stacheln. Patellen III — IV vorn



und hinten je 1 Stachel. Tibien I — II unten 2-2-2-2-2, III — IV unten 2-2-2, vorn und hinten je 1-1, oben in der Endhälfte 1 Stachel. Metatarsen I — II unten 2-2-2, an der Spitze scheint ein kleiner Stachel jederseits vorhanden gewesen, III unten 2-2-2, vorn und hinten je 1-1-2, IV unten hinten je 1-1-2-2, unten vorn 1-1-1, an der Spitze unten mitten 2, vorn und hinten je 1-1-1, oben in der Endhälfte 1 Stachel. Palpen: Fem. oben am Ende 1-4 (daselbst innen scopuliert, sonst die Palpen wie bei *reidyi* scopuliert), Pat. innen 1, Tib. an der Basis 4, nämlich innen 2, oben und aussen je 1, Tars. an der Basis innen 2, aussen ebenda 1 Stachel.

In Flüssigkeit erscheinen Cephalothorax und Extremitäten dunkelrot, die Seiten des Kopfteiles und eine Schrägbinde von den hinteren S.A. bis zum Rande undeutlich dunkler; Augen dunkel bernsteingelb. Mandibeln schwarz, vorn in der Endhälfte lebhaft orangegelb behaart. Abdomen oben schwärzlich mit deutlich erkennbarer Fleckenreihe, an den Seiten mit gelblicher Behaarung. Bauch und Abdominalseiten dunkel olivengraubraun, ersterer um 2,7 mm hinter der Spalte mit zwei kleinen, weissen, unter sich um 2,2 mm entfernten Muskelpunkten, letztere mit schwacher Andeutung hellerer Querbinden. Unterseite des Cephalothorax und Coxen rötlich dunkelbraun.

Männchen — stimmt mit Beschreibung und Figuren von *Ct. boliviensis* F. Cambridge 1897 mit der Ausnahme, dass es ein wenig grösser ist, das Tibialglied der Palpen vorn 2 helle, sich auch an der Basis des Tarsalgliedes fortsetzende Längsbinden hat (wie bei *Ct. reidyi*) und die Metatarsen IV wie III scopuliert. Letztere beiden Abweichungen würden sich wohl durch die Annahme, F. Cambridge's Typen seien abgerieben, erklären lassen und erstere ist von wenig Belang. Falzrandbürste lebhaft orange. Totallänge 38 mm. Cephal. 19 mm lang (ohne Mandibeln), 15 mm breit, am Clypeus 7,5 mm breit. Abdomen 17 mm lang, 13 mm breit. Mandibeln 8,5 mm lang, 7 mm breit. Sternum 8 mm lang, 7 mm breit. Palpen: Fem. 9, Pat. 4, Tib. 5, Tars. 7 mm lang, 3,5 mm breit. Beine. I — Fem. 21,5 Pat. 9, Tib. 32,5, Metat. 32,5, Tars. 7 mm; II — 20,5; 8,5; 20; 20; 6; III — 17,5; 7,5; 14; 16; 5,5; IV — 21; 7,7; 18,5; 26,5; 6,5. Totallänge: I — 102,5; 75; 60,5; 80,2 mm. Abdomen erscheint in Flüssigkeit bräunlich mit 2-3 Paaren kleiner, hellerer Punktflecken. Femoren (jedenfalls I u. II) unten in der Endhälfte dunkler als an der Basis und als oben. Abdomen oben höchst undeutlich mit feiner schwarzer Längslinie und 3 helleren Wischen jederseits dieser vor der Mitte gezeichnet.

Da die Palpenorgane des Männchens ganz mit *boliviensis* stimmen, die Epigynen jedenfalls ähnlich sind (über die von *boliviensis* enthält die Beschreibung nur eine Andeutung), die Lokalitäten nicht sehr weit entfernt und Cambridge's Typen, jedenfalls das Weibchen, abgerieben waren, wird unsere Art wahrscheinlich *Ct. boliviensis* F. Cambr. sein. Auf alle Fälle möchte ich jedoch den Namen *bolivicola* mihi vorschlagen.

Bei einem weiteren, wahrscheinlich derselben Art angehörenden, kleineren und anscheinend jüngeren, wenn auch reifen *Weibchen* ist die Epigyne heller rot, die Seitenwülste nicht so schwarz, eine deutliche Querleiste zwischen Mittel- und Endstück findet sich nicht, die Seitenfortsätze sind etwas schräg gegen das Mittelstück geneigt und erscheinen von vorne gesehen gerade, nur an der Basis leicht nach aussen gebogen; ihre Spitze ragt auch ein wenig höher und zwar ein klein wenig höher als die Seitenwülste des Mittelstückes. Ich möchte diese Abweichungen als Altersunterschied erklären... Eventuell wäre das grösste Weibchen als Type meiner *bolivicola* anzusehen".

Petrunkevitch, A. 1911, p. 471; Roewer, F. 1954, p. 648; Bonnet, P. 1956, p. 1276.

Phoneutria boliviensis Schmidt, G. 1954, Zur Herkunftsbestimmung von Bananenimporten nach dem Besatz an Spinnen, *Zeitsch. f. angew. Entomol.* 36(4), pgs. 414-415, Figs. 7a and 7b — vulva: one female. Hamburg.

3. *Phoneutria colombiana* Schmidt.

Phoneutria colombiana Schmidt, G. 1954, *Zeitschr. f. angew. Entomol.* 36(4), p. 406; Type of the vulva of the female like in Fig. 7b (*Ph. boliviensis*); ventral side of the abdomen with four series of whitish points- *Ph. colombiana* sp. n.; p. 418: *Phoneutria colombiana* sp. n. gehört gleichfalls in die *P. boliviensis* Gruppe. Die sehr grosse Spinne trägt dorsal auf dem Abdomen eine 2-reihige Punktzeichnung". *Type* in coll. of the Institut für Umweltforschung der Universität Hamburg. Type-place- Colombia; with bananas.

4. *Phoneutria decora* Gerstäcker

Phoneutria decora Gerstäcker, A. 1873, Arachnoidea, in C. Von Der Decken, Reisen in Ostafrica 3(2), Leipzig, p. 483 Pl. 18, fig. 7. *Type-* one female; *Type-place-* Mbaramu, East Africa; Simon, E. 1890, Études Arachnol. 22. *AAn. Soc. ent. Fr.* (6)10, p. 851; 1892, Arachnida in Höhnel, L. R. von, Zum Rudolph See und Stephanie See, Wien, p. 851; Bösenberg, W. and Lenz, H. 1894, Ostafrikanische Spinnen, *Jahrb. Hamb. wiss. Anst.* 12(2), p. 35; Pickard-Cambridge, F. O. 1898, On some arctic spiders..., *Journ. Linn. Soc., London* 26, pgs. 15,18; Arts. L. Des 1912, Zusammenstellung der afrikanischen Arten der Gattung *Ctenus*, *Jahrb. Hamb. wiss. Anst.* 29(2), p. 213; Bonnet, P. 1958, p. 3620.

Ctenus decorus Roewer, Fr. 1954, p. 640.

5. *Phoneutria fera* Perty

Phoneutria fera Perty, M. 1833, Delect. Anim. p. 197, Pl. 39, Fig. 3: "Tota fusco brunnea; pedibus nigro setulosis. Leg. 15''' (34 mm). Habitat ad flumen Rio Negro dictum, Provinciae ejusdem nominis. Specie praecedente (*rufibarbis*) satis major, crassior, robustior. Supra et subtus fusco — brunnea, unicolor, opaca, brevi — pilosa. Chelicornua ungue atro, nitido. Pedes passim setulis nigris muniti, quae e punctis albis oriuntur; subtus in geniculis flavi".

Gervais P. 1840, p. 307; Koch, C. L. 1848: "Männchen 13''' = 29 mm; Weibchen 15''' = 34 mm. Vaterland — Brasilien. Beschreibung des Männchens: ... Die 4 Mittelaugen .. ziemlich im Quadrate stehend und kaum um Augenbreite voneinander entfernt, die 2 hinteren Mittelaugen etwas grösser als die vorderen, alle vier vorwärts sehend. Das vordere Seitenauge sehr klein, dem hinteren Mittelauge zur Seite, .. das hintere Seitenauge ein klein wenig seitwärts hinter dem vorderen liegend, das hintere von der Grösse des vorderen der 4 Mittelaugen und ziemlich rückwärts sehend... Das Tasterendglied stark gewölbt, muschelförmig, mit verlängerter etwas dünner Spitze; alle Tastenglieder dicht filzig behaart. Die männlichen Genitalien dick, nierenförmig, an der Spitze nach unten ein schwärzliches Anhängsel. Der kleine Hinterleib des Mannes ist zottig dicht behaart. Die Beine sehr lang, die zwei vorderen und hinteren ziemlich gleich lang, das 2. Paar etwas kürzer als das 1., das 3. am kürzesten... Die Stachelborsten an diesen kurz und nicht stark. Vorder- und Hinterleib erdfarbig bräunlich ocker gelb, der Hinterleib oben etwas dunkler. Die Fresszangen rostrot, vorn aufs Ockergelbe ziehend, an der Spitz ins Rote übergehend. Taster und Beine ockergelb, wie der Vorderleib, die Schenkel an der Spitze ins Hellbraune übergehend, die folgenden

Glieder braungelb, der bürstenartige Filz unten an den Fersen und Tarsen grauschwarz. Die Iris der Augen dunkelbernsteinfarbig". "Das Weibchen ist grösser, stämmiger und hat kürzere Beine. In der Farbe sind beide Geschlechter gleich. Nach den Beschreibungen von Perty und Walckenaer geht letztere ins dunkler Braune über.

A fêmea, recaracterizada por Koch, era a mesma que Perty usara para descrever *P. fera*. A mesma, em 1917, já se encontrava no Museu de Berlim e foi redescrita por Strand. A etiqueta de procedência "Brasília" era ainda manuscrita por Perty (Strand, 1917). Em vista disto, tudo faz supor de que também o macho, descrito por Koch, era da coleção do Gabinete Real de Munich, e pertencia também às coletas que Spix e Martius realizaram às margens do rio Negro, Amazonas.

Holmberg, E. L. 1876, Aracnidos argentinos. *An. Agr. Argent.* 4 p. 26: "Sólo un ejemplar, hembra, tomado cêrca de Buenos Aires, en San José de Miraflores por el Sr. Coni, existe en nuestra colección (Museo Público de Buenos Aires). Por este hallazgo, su distribución geográfica se extiende desde las Guayanas, por el Brasil, hasta Buenos Aires".

É evidente, que o exemplar citado por Holmberg dos arredores de Buenos Aires, não pertence à espécie *P. fera*, que é amazônica e sim a uma espécie nova, aliás a primeira do gênero da área atlântica sul e à qual a maioria dos autores posteriores continuaram errôneamente designando como *fera*. Parece-nos que devem ser referidos a ela a diagnose e os desenhos de R. D. Schiapelli e B. S. Gerschman de Pickelin, em Mem. Inst. Butantan 33(3), pgs. 675-679, 1966.

Pickard-Cambridge, F. O. 1897, p. 66: "... The specific identity (of Pert's specimen) cannot be determined. I have little doubt that the figure of the eyes is entirely wrong.. but no one, not even the "earliest author", has any right to assume that Perty's figure of the eyes is wrong... If the figure is correct, then Keyserling's *ferus* is not the same as Perty's. I have assumed the figure to be correct, and have therefore given to Keyserling's *ferus* a new name... Whatever Koch's species (male, 29 mm, female, 34 mm) may be (and possibly the type is still in existence), one cannot consider it *P. fera* Perty, nor *Ctenus ferus* Walck., with both of which Koch regards his species as identical.

Mello-Leitão, C. de 1936, pgs. 15. 16: "*P. fera* e *P. nigriventer* constituem as duas espécies mais frequentes do Brasil e também as mais volumosas, medindo as fêmeas de 35 a 40 mm e os machos de 30 a 32 mm. Medidas mais comuns para *P. fera* — Fêmeas — 32 a 35 mm; Patas I: 14 — 15; 20,5; 12 — 13; 4.5 = 52 — 54 mm; II: 13 — 14; 19,5; 10 — 12; 4,5 = 47 — 51 mm; III: 10 — 11; 14,8; 9 — 10; 4 = 37 — 40 mm; IV: 14 — 15; 17 — 20; 15 — 17; 5 = 51 — 56 mm. Machos — 30 mm; Patas I: 18 — 26,5; 20; 6,5 = 71; II: 18; 24; 17,5; 6,5 = 66; III: 14; 18; 13; 4 = 49; IV: 19; 23; 21; 7 = 70 mm.

Schmidt, G. 1954, Zur Herkunftsbestimmung von Bananenimporten nach dem Besatz an Spinnen, *Zeitsch. f. angew. Entomol.* 36(4), p. 419, Figures 12a and 12b: "*Phoneutria fera* Perty wird bis zu 4 cm lang und ist durch Augenstellung, braune Körperfarbe und Form der Vulva hinlänglich gekennzeichnet". Bücherl, W., Studies on dried venom of *P. fera* Perty, in E. E. Buckley and N. Porges (Editors), *Venoms*, Amer. Ass. Adv. Sci. Washington, pgs. 95-97, 1956. Bonnet, P. 1958, p. 3620.

Ctenus ferus: Walckenaer 1837, p. 370 (the same specimen of Perty); Keyserling, E. 1891, Die Spinn. Am. Bras. Spinn. 3, p. 145: Weib- Totallänge 30 mm; Cephalothorax lang 17,2; in der Mitte breit, 13,1; vorn breit 7,3 mm; Abdomen lang 18,5, breit 13 mm; Bein I: 14,6 — 7 — 13,5 — 12,2 — 3,6 = 50,9 mm;

II: 14,0 — 6,9 — 12,6 — 11,2 — 3,6 = 48,3 mm; III: 11,0 — 5,8 — 8,5 — 8,8 — 3,0 = 37,1; IV: 14,6 — 6,2 — 12,0 — 15,0 — 4,0 = 51,8. Das ganze Tier dicht und kurz behaart, Cephalothorax und Abdomen einfarbig braun, die Beine, besonders oben, gelblich, die Schenkel unten am Ende und die Tibien, sowie die Metatarsen unten in ihrer ganzen Länge schwärzlich, die Mandibeln vorn mit rötlichen Haaren besetzt... Position of eyes and leg lengths are the same like in *C. nigriventer*. *Habitat*: Rio de Janeiro. Prof. Göldi legit. *Type*: in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London. Göldi, E. A. 1892, Zur Orientierung in der Spinnenfauna Brasiliens. *Mitt. Osterl.,* (N. F.) 5, p. 213. Simon, E. 1897, p. 108; 1897, List des Arachnides... dans la République Argentine et le Paraguay... *Bol. Mus. Zool, anat. comp. Torino* 12(270), pgs. 2, 3. Pickard-Cambridge, F. O. 1897, pgs. 53, 58, 81, Pl. 3, fig. 2c: "The two forms referred by Count Keyserling to *P. rufibarbis* and *P. fera* Perty, sub *Ctenus,* have been re-named (by me) *pertyi* and *keyserlingi* respectively"; p. 55: "*C. keyserlingi* nom. nov. = *C. ferus* (Perty) Keys. P. 81, Pl. 3, fig. 2-c". P. 58: "..it is probable that Perty is describing one of the larger *Cteninae,* there is no certainty in the matter. He says "ochracea, chelicornubus rufo — hirtis", a coloration which is to a greater or less extent characteristic of several other large species. There is, however, *one character which, if it appeared on any form of large Ctenus, would go far to substantiate its identity*" — abdomine albopuctanto. Seriebus tribus longitudinalibus punctorum alborum" — a character which receives double significance from Perty's figure. If one (spider) is found so decorated, my conclusion would need reconsideration... The figure of the eye formula... the second row of eyes is strongly recurved (in the figure). In all the New World forms I have been able to examine this row is either *straight* or *procurved*... The *type* of the form to which Keyserling assigned the name *P. fera* Perty, *is now before me,* and in this specimen the second row of eyes is most distinctly *straight*. It cannot be called *fera* Perty, and I have much pleasure... to refer it as *C. keyserlingi*. As to the specific identity of the true *P. fera* Perty, one is compelled to regard it as a "forma ignota" also, though its generic relations are certain so far as the eye-formula is concerned. Keyserling probably concluded that Perty's figure was erroneous; most likely it is, but without any description bearing out such a conclusion, one has no right to assume it to be so". P. 61: "*Ctenus ferus* (Perty) Walck. 1837. Female, 34 mm. Rio Negro, Brazil". P. 64: "*Ctenus ferus* (Perty) Keyserling 1891. Female, 30 mm; Rio de Janeiro; Göldi legit; *type* in coll. Brit. Mus. Nat. Hist. I changed the name of this specimen to *C. keyserlingi*... I may add, however, that it is very unlikely that a species found at Rio Janeiro would be identical with one taken on the Rio Negro. The vulva having never to my knowledge been figured, I give one from Keyserling's *types* Pl. III, fig 2-c"; 1902, p. 412: *C. keyserlingi* F. Cambridge for *C. ferus* (Perty), the specimen of Keyserling — Rio de Janeiro. Moenkhaus, W. J. 1898. Contribuição para o conhecimento das aranhas de São Paulo, Rev. Mus. Paulista, 3, p. 78: Habitat-Piquete, State of Rio de Janeiro, Brazil; Banks, N. 1899, Spiders among Bananas, *Ent. News* 10, p. 44; Petrunkevitch 1911, p. 473 (*keyserlingi*); Strand, E., 1917, Arachnol. Var. *Arch. Naturg.* 82A(2), p. 72: "Es liegen mir einige trockene Exemplare von Spinnen vor, die mit Perty's Handschrift "Brasília" etikettiert sind, und die ich *für die Perty'schem typen* halte, trotzdem leider keine Namenetiketten daran stecken. Wahrscheinlich sind die Etiketten nicht an, sondern neben der Nadel des Tieres eingesteckt gewesen und sind dann nachher verloren gegangen, während die an der Nadel steckenden Lokalitätsetiketten noch vorhanden sind. Von *Ctenus* findet sich nur Cephalothorax mit Extremitäten eines einzigen Exemplares, das die T y p e (wenn überhaupt eine

solche) von *Phoneutria fera* sein muss, da die dunkelbraune Behaarung der Mandibeln sofort zeigt, dass es *P. rufibarbis* unmöglich sein kann... Bei dem Typen... exemplar ist leider das Augenfeld etwas beschädigt, *wodurch das linke hintere M. A. stark verschoben und das linke vordere M. A. schwach verunstaltet worden ist.* Jedenfalls deuten die rechten Augen, die unbeschädigt geblieben, an, dass die 2. Augenreihe tatsächlich schwach *recurva* ist, als der Hauptsache nach wie von Perty gezeichnet, wenn auch weniger stark gebogen... weil der Unterschied so gering ist und die allmählichsten übergänge swischen der procurva, geraden und schwach recurva gebogenen Form der 2. Augenreihe bei sonst gänzlich übereinstimmenden *Ctenus* vorkommen... Unwahrscheinlich ist es auch nicht, dass die 2. Augenreihe bei Alkoholexemplaren gerade sein würde... Das mittlere Augenfeld ist vorn ein klein wenig schmäler, die vorderen M. A. kleiner, von den hinteren M. A. fast um ihren Durchmesser entfernt; die vorderen S.A. von den hinteren M. A. und hinteren S. A. um reichlich ihren längsten Durchmesser entfernt; letztere scheinen unbedeutend kleiner als ihre M.A. zu sein... Beine — I: 11; pat. + tib. 16; 9,5; 3,5 = 40 mm; II: 10,5; 14,5; 9; 3,5 = 37,5 mm III: 9; 11,5; 11,5; metat. u. Tarsen mindestens 11 = circa 31 mm; IV: 11; 13; 13,5; 4 = 41,5 mm. Bestachelung: Alle Femuren oben mitten 1-1-1; I: vorn 1-2-1, hinten 1-1-1; II: vorn 1-1-1-1 in gekrümmter Reihe, hinten 1-1-1; III; vorn und hinten 1-1-1-1; IV: vorn 1-1-1-1 oder 1-1-1, hinten an der Spitze-1. Patellen I und II scheinen unbewehrt, III und IV vorn und hinten je 1. Tibien I: unten 2-2-2-2-2, an den Seiten scheinen keine zu sein; II: unten wie I, vorn 1-1 (oder 1-1-1?); III: unten 2-2-2, vorn und hinten je 1-1, oben 1-1-1; IV: wie III Metatarsen I und II der trockenen Type so dem Körper angedrückt, dass eine genaue Untersuchung nicht möglich ist, III und IV mit vielen. Palpen: Femur oben nahe der Spitze 4 oder 5, Patellen jedenfalls innen 1, Tibien jedenfalls mit 2 innen nahe der Basis und 1 oben, auch das Tarsalglied bestachelt".

This is very important, because the descriptions of *P. fera* from Rio Negro, Amazonas, made by Perty (the first female), by Koch (the first male), and by Strand (redescription of the type from Perty), point out that the amazonean species of this genus are really different from the species of the south of Brazil, Argentina, and Uruguay, described under the same name (*fera*) by several authors (Keyserling, Holmberg, Mello-Leitão, Moenckhaus, Brazil and Vellard, Gerschman de Pikelin and Schiapelli, Bucherl, and others). Brazil, V. & Vellard, J. 1925, Contribuição ao estudo do veneno de aranhas, *Mem. Inst. Butantan* 2, p. 28: "A *Ctenus ferus* é uma aranha grande, a fêmea cinzenta escura, o macho quase preto, podendo a primeira atingir 42 mm, o segundo 36 mm; reconhece-se esta espécie pelas suas fortes quelíceras cobertas de pêlos fulvos e pelos espinhos, em série, das patas, implantados em pontos brancos... quando é atacada, toma uma atitude ameaçadora, levantando suas patas anteriores, pronta a pular sôbre as posteriores, funcionando como uma mola. Esta espécie se encontra com muita facilidade nos arredores do Rio de Janeiro e Niterói, sôbre as bromélias; é encontrada igualmente no Estado do Espírito Santo e no litoral do Estado de São Paulo". Berland, L. 1932, Les Arachnides, *Encyclop. entomol., Paris,* 16, p. 247; Mello-Leitão, C. de 1933, Catal. Aranhas Argent., *Arch. Esc. Sup. agr. med. veter.* 10(1), p. 47; Schmidt, G. 1953, p. 101, Fig. 9; Roewer Fr. 1954, p. 650.

6. *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão)

Ctenus luederwaldti Mello-Leitão, C. de, 1927, Arachnídeos de Santa Catarina (Brasil), *Rev. Mus. Paul.* 15, pgs. 397-403, One *female*; *type* in coll. Museo Paulista, São Paulo, Brasil, n.° 823. *Type-locality*: Blumenau, Santa Catarina, Brasil.

Olhos L. A. formando com os M. P. uma linha reta. Área dos olhos médios quase tão larga quanto alta, muito pouco mais estreita adiante. Tíbias anteriores com 5 pares de espinhos inferiores, sendo os apicais bem menores, sem espinhos laterais; metatarsos com densa escópula até a base e com 3 pares de espinhos inferiores. Escópulas dos metatarsos IV apenas no têrço apical. Cefalotórax fulvo claro, côr de mogno, com pêlos curtos, brancos e pequenas cerdas negras, apresentando no meio estreita faixa mediana longitudinal fulvo escura, em ponta de flecha, entre os olhos da 2.ª fila e terminando no sulco toracal, onde está situada a parte sagitiforme. Olhos com orlas de pêlos brancos, maiores que os do revestimento. Face com duas linhas escuras que partem dos olhos da 3.ª fila e vão terminar nos ângulos ínfero-laterais do clípeo. Abdomen no dorso pardo-amarelado, com densos pêlos sedosos brancos e amarelos e com cerdas negras eretas; no têrço anterior uma linha mediana longitudinal escura e de cada lado, outra linha clara. Depois seguem-se 4 pares de manchas indecisas, formadas de pêlos brancos, orladas, na posição externa, por pêlos negros. Ventre fusco adiante da fenda genital, negro atrás desta fenda e junto às fiandeiras, sendo os dois campos negros separados por larga faixa vermelho-alaranjada, curva para diante em "U" muito aberto e cortada na linha mediana por 2 estrias longitudinais negras, paralelas, duas pontes ligando os dois campos negros. O campo posterior em forma de "V", de vértice muito largo. Epígino com duas cristas virguliformes longitudinais. O desenho característico distingue facilmente a espécie das outras". Camargo-Andrade, C. A. De 1937, Índice das formas novas... *Rev. Mus. Paulista*, 21, p. 688; Roewer, Fr. 1954, p. 652.

Phoneutria luederwaldti Mello-Leitão, C. De 1936, pgs. 15, 18; Bonnet, P. 1958, p. 3620, V.R.D. von Eickstedt e S. Lucas 1969, Revisão dos tipos de *Phoneutria paca* (Mello-Leitão), 1922 e *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927, *Mem. Inst. But.*, vol. 34.

7. *Phoneutria nigriventer* (Keyserling)

Ctenus nigriventer Keyserling 1891, pgs. 144, 145, Pl. 4, fig. 98- vulva: Weib; Totallänge 30 mm; Cephalothorax lang — 15, in der Mitte breit — 11,5, vorn breit — 6,8 mm; Abdomen lang — 16, breit — 11 mm; 1. Fuss: 12,6 — 6 — 11,9 — 10,4 — 4 = 44,9 mm; 2. Fuss: 12 — 6 — 10,7 — 9,7 — 3,8 = 42,2 mm; 3. Fuss: 10 — 5 — 7,8 — 8 — 3,5 = 34,3 mm; 4. Fuss: 13 — 5,6 — 10,8 — 13,3 — 4,1 = 46,8 mm. Das ganze Tier dunkel braun, das Sternum, die Coxen, die untere Seite der Tibien, Metatarsen und Tarsen, besonders der vorderen Beinpaare und das Endglied der Palpen fast schwarz, der Cephalothorax und die Beine kurz hell braun und gelblich behaart, vorn an den Mandibeln lange rote Härchen. Das dicht und länger behaarte Abdomen auch braun, oben mit undeutlichem Längsbande hellerer Flecken und am Bauche mit einem vorn sehr breitem, nach hinten zu schmäler werdenem schwarzem Bande. Der Cephalothorax... oben nicht hoch gewölbt, von der Mittelritze bis zu den Augen gleich hoch, der Kopfteil an den Seiten recht schräge abfallend. Die beiden vordersten Augen etwas kleiner als die hintersten und sichtlich kleiner als die M.A. der 2. Reihe und mehr als doppelt so weit vom Stirnrande. Die 2. Reihe gerade, d.h. eine gerade Linie würde den unteren Rand (vorderen) der M.A. und S.A. berühren. Die kleinen S.A. sitzen etwas mehr als um ihren Durchmesser von den M.A. und ebenso weit von denen an der Seite einer Wulst befindlichen der hintersten Reihe. Die M.A. der 2. Reihe liegen nicht ganz um ihren Durchmesser von einander und doppelt so weit von den kaum kleineren der etwas breiteren hintersten Reihe... An dem Falz der starken Mandibelklaue sitzen vorn 3 und hinten 5 Zähnchen, von denen der 1., von der Basis aus gerechnet, ganz klein ist und sich dicht an den 2.

grösseren anlegt. Die stark gewölbte, vorn gerundete Lippe, so breit als lang und kaum halb so lang als die Maxillen. Das dicht behaarte flache Sternum etwas länger als breit... Die dichte Scopula erstreckt sich an den beiden vorderen Beinpaaren bis auf den grössten Teil der unteren Seite der Tibien, an den hinteren reicht sie nicht ganz bis an den Anfang der Metatarsen. Die Bestachelung der einzelnen Glieder ist folgendermassen: Femur an allen oben und an den Seiten--zahlreiche; Patella nur an III und IV vorn und hinten 1; Tibia I und II unten 5 Paar, III und IV unten 3 Paar, an jeder Seite 2 und oben 3; Metatarsus I und II unten 3 Paar, III und IV zahlreiche.

Habitat: Rio Grande do Sul (Brazil). Dr. von Ihering legit. Die Epigyne von *C. nigriventer* ist wesentlich anders gestaltet als die von (*Phon.*) *Ctenus rufibarbis* (Perty) Keys., die beide grosse Ähnlichkeit haben, sich aber noch durch den schwarzen Bauch des ersteren von einander unterscheiden... Da *C. nigriventer* eine ganz ebensogestaltete Epigyne wie *C. ferus* (Perty) Keys, 1891 (Pickard-Cambridge = *C. keyserlingi*) besitzt, ähnlich gefärbt, nur dünner behaart ist und sich eigentlich nur durch das schwarze Feld am Bauche auszeichnet, ist er vielleicht nur eine Varietät von *C. ferus.!* Die Stellung der Augen, sowie die Längenverhältnisse der Beine sind bei beiden Arten auch dieselben". Pick- . Cambridge, F. 1897, p. 55, Pl. 3, fig. 2-d: *Ctenus nigriventer;* p. 64: *C. nigriventer* Keys, 1891: *Type* in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London. This form is very closely allied to *C. bolivensis* as well as to *C. keyserlingi.* The external plate of the vulva is, however, shorter in proportion to the breadth than in either of the two latter species.; p. 81: distinguished from *keyserlingi* and *boliviensis* by the black ventral surface of the abdomen and a difference in the form of the vulva. Pl. 3, Fig. 2-c and d. To finally confirm or refute the apparent distinctions between these forms one needs many more specimens. It is impossible to make definite assertions based on a single specimen of each form; 1902, pgs. 410, 412; Moenkhaus, W. J. 1898, p. 77: *Habitat* — Piquete, Raiz da Serra, Alto da Serra, Perus, around the city of São Paulo, and Ipiranga in the city of São Paulo; Strand, E. 1910. Neue oder wenig bekannte südamerikanische *Cupiennius* und *Ctenus* Arten, *Zool. Jahrb. Syst.* 28(3), p. 296-297: "Exemplare aus Paraguay und Mato Grosso. Cf. Strand, *Zeitschr. Naturw.* 79, pgs. 268-269, 1907, Ferner Exemplares von Rio Alto, Paraná; col. Niederlein. Bei unreifen Exemplaren von San Bernardino, Paraguay, unter Steinen gefunden (Fiebrig), die wahrscheinlich dieser Art angehören, ist eine schwarze Längsbinde am Bauche nicht oder höchst undeutlich vorhanden, dagegen befindet sich hinter der Spalte ein die ganze Vorderhälfte des Bauches einnehmendes tief schwarzes Querfeld. Die helle Längsfigur des Abdominalrückens meistens wenig deutlich, die Beine am Ende bisweilen an der ganzen Oberseite geschwärzt, an den Beinen I und II unten mit je einem tiefschwarzen Fleck am Ende der Femoren, an der ganzen Unterseite der Patellen und in der Endhälfte der Tibien. Mandibeln in Flüssigkeit blutrot. Ein weiteres unreifes Exemplar (21 mm lang), von Fiebrig am 17. Dezember gefangen, "in der Krone eines hohen Baumes. Springt aggressiv." Ferner fand Fiebrig ein Exemplar an einer Blattunterseite, 8 Meter über dem Boden. Ein unreifes Exemplar von nur 19 mm Körperlänge fand Fiebrig am 4. Dezember an einer Blattunterseite, 7 Meter über dem Boden, wohin die Spinne zwei starke Fäden gesponnen hatte. Ein Weibchen von *Blumenau*, Brasilien — 32 mm Totallänge, Cephaloth. 15 mm lang, 11,5 Mitte breit, 6,5 mm vorn breit; Beine — I: 13,5 — 6,5 — 13 — 11 — 4 = 48 mm; II: 13 — 6,2 — 11,2 — 10,2 — 4 = 44 mm; III: 10,5 — 5 — 8 — 8 — 4 = 35,5 mm; IV: 13,5 — 5 — 12 — 14,5 — 4 = 49 mm. Epigyne 3 mm lang und hinten breit. Der Bauch ist nicht schwarz hinter der Spalte, jedoch dunkel. Ferner ist eine deutliche Reihe heller Flecke auf dem Abdominalrücken

nicht vorhanden, der helle Herzstreif aber scharf ausgeprägt. Ein Männchen, von San Bernardino, von Fiebrig am 8. März im Haus gefangen. Mandibeln und Abdomen ventralteils ziegelrot. 32 mm; Cephalothorax 16,5 mm lang, 12,5 mm breit, vorn 5-6 mm breit. Beine — I: 18 — 7 — 18,5 — 19 — 7,5 = 70 mm; II: 17 — 7 — 16 — 17,5 — 7 = 64,5 mm; III: 16 — 6 — 12 — 13 — 5 = 50 mm; IV: 18 — 6 — 16 — 22 — 7 = 69 mm. Palpen: Femur 9, Patella 4, Tibia 5, Tarsus 5,5 mm = 23,5 mm. Die Färbung wie die des Weibchens, sowohl der Herzstreif als die Schrägflecken des Abdominalrückens deutlich, Bauch aber mit gelblicher Behaarung; in Alkohol erscheinen aber in gewissen Richtungen gesehen vier dichte Reihen gelblicher Flecken auf schwarzem Grunde. Cephalothorax mit dichter graugelblicher Behaarung, aber die grosse tiefe Mittelritze dunkler erscheinend. Tibial- und Tarsalglied der Palpen innen dicht scopulaähnlich behaart, erstere vorn mit zwei schmalen parallelen Haarblössen. Tibialglied der Palpen am Ende aussen mit einem schwarzen, zungenförmigen, dem Tarsalgliede dicht anliegendem Fortsatz, der von der Seite gesehen schräg nach unten und vorn gerichtet erscheint, oben der Länge nach gewölbt und leicht wellenförmig begrenzt, am Ende breit abgerundet ist. Von oben und etwas vorn erscheint er gerade schräg nach aussen und vorn gerichtet, mit schwach zusammengedrückten Ober- und Endrand; die Länge fast gleich der Breite des Gliedes an der Spitze. Der rotbraune, hinten quergeschnittene und etwas verjüngte, im Profil gesehen, an der Unterseite kaum gewölbt erscheinende Bulbus trägt unten in der Endhälfte einen runden, am Ende etwas zackigen weissen Fleck. Längs dem Innenrande des Bulbus ein starker, sichelförmiger, gekrümmter, em Ende zugespitzter Fortsatz, der etwas hinter der Spitze, an der Aussenseite leicht ausgerandet ist. Am Ende des roten Bulbushügels befindet sich ein etwa bohnenförmiger schwarzer, schräg quergestellter Fortsatz, der vorn die Begrenzung des weissen Fleckes bildet... Diese Form wird wohl gleich *C. keyserlingi* F. Cambr. (= *ferus* Keys.) sein, wenn auch weder die Färbung noch genau die Epigyne übereinstimmen. Sowohl Cambr. als Keys. waren übrigens geneigt, beide Formen als Varietäten einer Art anzusehen. Spezifische morphologische Unterschiede kann ich nicht finden. Die Bauchfärbung erinnert mehr an die jungen Individuen. Bei letzteren können auch die Rückenfiguren ebenso undeutlich sein. Ferner unreifes Exemplar (Weibchen) von Sta. Catarina, Brasilien (Kilman). Ein reifes gravides Weibchen von "Südbrasilien, Sta. Catarina. Von botanischen Garten erhalten;... der Bauch schwarz behaart, etwa wie beim typischen *nigriventer*. Rücken mit scharf markiertem Herzstreif und dahinter zwei parallele Längsreihen von je 4 kleinen, weissen, aussen und innen schmal schwarz begrenzten Haarflecken. Weisse Haarpunkte auch an der Basis aller Stacheln. Zusammen mit diesen ein ganz junges Exemplar. Auch an diesem ist am Abdominalrücken an hellen Zeichnungen nur der Herzstreif vorhanden; der Bauch nur hinter der Spalte mit schwarzer Querbinde... Von San Bernardino liegt ein altes Weibchen... vor, das oben wie die dunkleren *keyserlingi* gefärbt ist. Der Bauch ist aber ganz einfarbig schwarz und zwar auch an den Seitenpartien; 1916: Systematische-faunistische Studien..., *Arch. Naturg.* 81A(9), p. 129. Petrunkevitch, A. 1911, p. 575. Brazil, V. and Vellard, J. 1925, p. 45-46: "A *Ctenus nigriventer* é uma espécie muito vizinha da *ferus*, que ela substitui nos arrabaldes de São Paulo, onde é comum em casas velhas, nas casas de cupins. Mello-Leitão, C. de, 1927, p. 397. Berland, L. 1932 pgs. 247-251. Gerh & Kästn., 1938 p. 628.

Phoneutria nigriventer Mello-Leitão, C. de, 1936, pgs. 15-16: "As fêmeas entre 28 e 40 mm; machos entre 20 e 30 mm. Medidas de exemplares por nós medidos: Fêmeas: Comprimento total do corpo: 28 mm; 29 mm; 31 mm; 34,5 mm; 38 mm. Comprimento total das pernas: I — 47; 42; 4). 51,5; 57,5 MM; IV —

48; 41; 43; 53; 60; Pat. + Tibias I e IV — 15,5 — 16,5; 16,4 — 15; 15,5 — 15; 20,5 — 18; 22,5 — 20; Metatarsos I e IV — 11,5 — 14; 10 — 12; 9,6 — 16,5; 12 — 21; 13,5 — 17,5.

Em 3 machos: comprimento total: 20 — 22 — 27. Comprimento total das pernas I e IV — 54 — 53,5; 62 — 59,7; 56 — 57. Patelas e tíbias I e IV — 20,5 — 18; 22,5 — 20; 21 — 19. Metatarsos I e IV — 15 — 16,5; 17 — 18,5; 13 — 18. Variação de colorido: Em uma fêmea, abdomen flavo, no dorso com uma faixa mediana lanceolada e com 4 pares de manchas grandes, indecisas, mais pálidas; pêlos das quelíceras vermelhos. Em outra fêmea, abdomen com pêlos pálidos, no dorso sôbre a faixa pálida indecisa 3 pares de pontos flavos; campo prêto do ventre cortado por duas faixas transversais marrons, perto do epíginio e em frente às fiandeiras". Bücherl, W. 1951 — Estudos sôbre a biologia e a sistemática do gênero *Grammostola, Monograf. Inst. Butantan* 1: pgs. 22, 23, 30, 40, 53, 67; 1952. Aranhas do Rio Grande do Sul, *Mem. Inst. Butantan* 24(2): p. 135, 1953. Nôvo processo de obtenção de veneno sêco, puro, de *P. nigriventer, Mem. Inst. Butantan* 25(1): pgs. 153-174, 1953. Dosagem comparada da atividade dos extratos glandulares e do veneno puro de *P. nigriventer* (Keys.) 1891, *Mem. Inst. Butantan* 25(2):1-22. Bonnet, P. 1958, p. 3621. Schiapelli, R. D. and Gerschman de Pikelin, B. S. 1966, *Mem. Inst. Butantan* 33(3):675-682.

Phoneutria fera Schmidt, G. 1954. Über das Auftreten mittel- und südamerikanischer Giftspinnen in Deutschland, *Ärztliche Praxis* 6(39), p. 5, synonym *C. ferus, C. nigriventer, C. keyserlingi.* Bücherl, W. 1956, pgs. 95, 97.

8. *Phoneutria nigriventroides* (Strand)

Ctenus nigriventroides Strand, E. 1907. Über drei Clubioniden und eine Pisauride vom Sorata in den Cordilleren, *Zeitschr. Naturw.* 79, pgs. 425, 426. "Weibchen, Totallänge 42 mm; Ceph. 18 mm lang, 14 breit, 7,5 vorn breit. Palpen: Fem. 7, Pat. 3,8, Tib. 5, Tars. 6 mm = 21,8 mm. Beine — I: Fem. 17, Pat. 8, Tib. 16,5, Met. 15,5, Tars. 5,2 = 62,2 mm; II: 16,3; 7,7; 14,5; 14,5; 5 = 58; III: 13,5; 6,5; 11; 11,5; 4,5 = 47; IV: 17,5; 6,8; 15; 19,5; 6 = 64,8 mm. Epigyne 2,8 mm lang und ebenso breit über die beiden Seitenfortsätze, das Hinterstück 2 mm breit, Aussenseiten der Enden der Längskiele (zwischen den Seitenfortsätzen gemessen) unter sich um 1,5 mm entfernt; sie ähnelt jedenfalls der Epigyne von *C. nigriventer* Keys. (cfr. Cambr. in *Ann. Mag. Nat. Hist.* (6)19, p. 3, fig. 2-d), aber die schwarzen Längskiele sind gleichbreit, divergieren ganz allmählich von der Basis bis zur Spitze (d.h. zwischen den beiden Seitenfortsätzen) und zwar ganz stark, das Endstück ist breiter, etwa doppelt so breit als lang und jederseits in der vorderen Hälfte mit zwei sichtbaren Querfurchen versehen. Vor den Seitenfortsätzen je eine tiefe Längsfurche. Die Originalabbildung der Epigyne von *nigriventer* stimmt eigentlich besser mit meinen Exemplaren als die Abbildung von Cambr. Bauch mit schwärzlichem, nach hinten verschmälertem, beiderseits von einer grauweisslichen Punktfleckenreihe begrenztem Mittelfed, in welchem zwei weitere ähnliche, mit den äusseren parallele Fleckenreihen sich befinden. Rücken scheint eine hellere, durch einen braunen Streif geteilte Längsbinde zu haben. Vorderbeine unten, mit Ausnahme der Basalhälfte der Tibien, schwärzlich. Alle Scopulen schwarz. Gegen die Identität der vorliegenden Art mit *C. nigriventer* würde sprechen, dass die Palpen vorn mit zwei hellen Längslinien, ähnlich wie bei *C. reidyi* und *C. boliviensis* versehen sind und dass der Bauch mit hellen Punktflecken gezeichnet ist; beide Abweichungen lassen sich aber durch die

Annahme, Keyserling's einziges Exemplar sei abgerieben, erklären. Eventuell möge die Art *C. nigriventroides* m. genannt werden". Mello-Leitão, C. De, 1936, p. 16. "Como temos dito acima, é bem difícil de precisar, se tôdas as *Phoneutria* conhecidas, não sejam apenas uma única espécie. Deveríamos, então, considerar, pelo menos provisòriamente, a *C. nigriventroides* Strand, como uma espécie bem caracterizada". Roewer, Fr., 1954, p. 653.

Phoneutria nigriventroides Bonnet, P., 1958, p. 3621.

9. *Phoneutria niveobarbata* Mello-Leitão

Phoneutria niveobarbata Mello-Leitão, C. De, 1945. Arañas de Misiones, Corrientes y Entre Rios, *Rev. Mus. La Plata (N.S.), S. Zool.* 4, pgs. 256-257, Fig. 41. "Macho — 22 mm. Pernas I: Fem. 13; Pat. + Tib. 18; Met. 12,4; Tar. 4 = 47,4 mm; II: 12,6; 16,4; 11,2; 3,8 = 44 mm; III: 10; 12,4; 9,4; 3,2 = 35 mm; IV: 13; 15,8; 15,6; 4,2 — 48,6 mm. Cefalotorax anaranjado, revestido de corta vellosidad blanca, con estrecha línea mediana negra, desde el borde posterior hasta los ojos posteriores. Faz con dos fajas castaño negruzcas desde los ojos laterales anteriores hasta el borde del clípeo y dos fajas blancas y ancha mancha mediana en la cual están los ojos médios. Quelíceros de tegumento casi de color carmín, con largos pelos blancos. Palpos de color caoba; las tíbias con una fimbria de color castaño oscuro; patelas con dos anchas fajas negruzcas, separadas por ancha faja blanca; tarso negruzco con larga fimbria de largos pelos blancos. Patas de color caoba, con largos pelos sedosos amarillentos. Pieza labial de color caoba; láminas maxilares de color caoba en su mitad basilar, negras en su mitad distal y con estrecha faja blanca apical. Esternón negro. Abdomen pardo-oscuro, revestido de pelos sedosos de color amarillo claro y de cerdas negras; cara ventral parda, mosqueada de amarillo y ornada de una gran mancha castaño-oscura, parecida al dibujo ventral de *Polybetes pythagoricus,* con dos hileras de puntos amarillos y dos manchas circulares de pelos blancos. Coxas negras. Segunda hilera ocular reta. Área de los ojos medios poco más larga que ancha, paralela, los ojos anteriores algo menores. Quelíceros con cuatro dientes en su borde inferior y tres en el superior. Protarsos y tarsos con densas escópulas. Tíbias armadas de 2-2-2-2-2 espinas ventrales y 1-1 laterales, en su tercio basilar. Protarsos armados de 2-2-0-0-2 espinas ventrales. Palpos presentando en la cara interna de la tibia y de la patela un denso cepillo de largos pelos sedosos. *Localidad tipo*: Rosario Tala. Entre Rios. Col. Boero.

Ctenus niveobarbatus Roewer, Fr., 1954, p. 653.

10. *Phoneutria ochracea* C. L. Koch

Phoneutria ochracea Koch, C. L., 1848. Die Arachniden, 15, p. 62, T. 1460: "*Männchen. "Brasilia*"... Im Bau des Körpers, aller Glieder und Augenstellung mit *fera* übereinstimmend, nur ist der Hinterleib nicht zottig behaart, sondern seidenartig mit kurzen Härchen dicht bedeckt. 26,5 mm. Das ganze Tier ist samt Taster und Beinen einfarbig bräunlich ockergelb, nur der Bauch und die Seiten etwas heller. Ich kenne nur die mänliche Spinne, wovon ein gut erhaltenes Exemplar sich in dem Königlichen Gabinet in München vorfindet. Vaterland- Brasilien; 1851, *Übers. d. Arachnidensyst.* 5, Nürnberg, p. 36. Pickard-Cambridge, F., 1897. "I have not met with any form which agrees with this figure and description. Possibly the *type* is also in existence". Mello-Leitão, C. de, 1936, pgs. 15, 17". Males-Tibia des pattes machoires environ deux fois plus long que large;

il y a deux apophyses tibiales — *P. ochracea* C. Koch, 1848. Nous avons identifié à cette espèce un mâle de São Paulo. Mâle — 29 mm; Pattes — Fémur 20,5; Pat. + tib. 27; Protarse 21; Tarse 5,5 = 73 mm; II: 18; 24,5; 18,5; 5 = 66 mm; III: 15,5; 19; 14,5; 5 = 54 mm; IV: 19; 25; 23,5; 5,5 = 73 mm. Céphalothorax élévé en avant. Deuxième ligne oculaire droite. Aire des yeux médians plus longue que large, parallèle, des yeux egaux. Bandeau plus étroit que les yeux antérieurs. Marge inferieure des chélicères avec 4 dentes seriées, le basal le plus petit. Tibias I et II avec 5 paires d'épines inférieures et 1 latérale basale. Céphalothorax fauve, avec des lignes rayonnantes un peu plus pâles et orné de poils pâles marginaux. Abdomen fauve-brique concolore; le ventre orné de poils noirâtres de pointes pâles. Pattes, chélicères, sternum et pièces buccales fauve foncé". Bonnet, P. 1958, p. 3621.

Ctenus ochraceus Simon, E., 1864, p. 378; Petrunkevitch, A. 1911, p. 475; Roewer, Fr., 1954, p. 653.

11. *Phoneutria paca* (Mello-Leitão)

Ctenus paca Mello-Leitão, C. de, 1922. Novas Clubionidas do Brasil, *Arch. Esc. sup. agr. med. veter.* 6, p. 41:. "Female; *Type* in coll. Departamento de Zoologia, Ipiranga, São Paulo. 33 mm; Cef. 16,5 por 12,5 mm; Pernas — 51; 45; 38,5; 51 mm. Patela + tíbia — 20; 18; 13; 17,5 mm. Clípeo mais estreito que a área dos olhos médios. 2a. fila ocular direita. Área dos olhos médios pouco mais estreita adiante, os anteriores menores. Quelíceras com 4 dentes iguais na borda inferior e 3 na superior, dos quais o médio muito maior. Tíbias anteriores com 4 pares de espinhos inferiores, sem espinhos laterais ou superiores, do II par com 4 pares e mais 1-1 de cada lado; protarsos dos 2 primeiros pares com 3 pares de espinhos inferiores, sem laterais. Cefalot. fulvo escuro com uma linha negra mediana. Quelíceras da côr do cefalotórax, com pêlos vermelhos dorsais. Esterno e ancas das pernas, lábio e lâminas maxilares, negros. Pernas fulvo escuras, tendo, na face ventral, manchas negras nos ápices dos fêmures, nas patelas e na metade apical das tíbias, protarsos e tarsos negros. Abdomen negro, tendo na parte anterior do dorso 3 linhas claras longitudinais, das quais a mediana maior e mais estreita, seguida por uma larga faixa denteada, formada por manchas triangulares de base posterior; de cada lado dessa faixa há 3 linhas obliquas para baixo e para trás, paralelas, formadas de pequenos pontos claros; ventre castanho escuro, com um grande campo triangular mediano negro. Epígino com duas cristas longitudinais, semelhantes às de *C. nigriventris* Keys. *Habitat* — São Paulo". Roewer, Fr., 1954, p. 653.

Phoneutria paca Mello-Leitão, C. de, 1936, pgs. 15, 18; V.R.D. von Eickstedt e S. Lucas 1969, Revisão dos tipos de *Phoneutria para* (Mello-Leitão), 1922 e *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927, *Mem. Inst. But.*, vol. 34.

12. *Phoneutria reidyi* (Pickard-Cambridge)

Ctenus reidyi Pickard-Cambridge, F., 1897, p. 54. "*C. reidyi* sp.n. — Female, Santarém, Lower Amazons. Pl. 3, Figs. 1 a 2". P. 78. "*Ctenus reidyi* sp.n., Female. *Hab.* Forest, Santarém. *Type* in coll. Brit. Mus. Nat. Hist., London. Length, including mandibles, 40 mm. Colour-Carapace orange mahogany, clothed with short golden brown hairs. Abdomen dull yellow-brown, clothed with golden-brown hairs. Mandibles stout, black, densely clothed with bright orange hairs in front. Coxae of pedipalps and sternum dark brown, the latter clothed with golden-brown hairs. Legs-Coxa, trochanter, femur and tibia orange-brown; pro-

tarsus and tarsus dark brown, entirely clothed with golden-brown pubescence. Pedipalp-Femur and patella orange-brown; tibia and tarsus clothed with a broad band of black pubescence on inner side, a thin line of gray pubescence, and another broader band, black, followed on the outer side with a broad band of gray pubescence, appearing on the upperside as two narrow grey lines. Structure-Carapace 16 mm long, 13,5 mm broad; abruptly inclined behind, slightly raised towards caput. Central groove distinct, segmental striae just discernible. Eyes-laterals situated on a strong tubercle; diameter of anteriors half that of posteriors, situated one diameter from them. Second row straight by anterior margins; the four centrals situated in a quadrangle, slightly longer than broad; posterior centrals very slightly larger. Mandibles with a shiny tubercle at base on outer side. Fanggroove with 5 teeth on outer margin, 3 on inner margin. Legs — (1-4)- 2-3. Every segment except the first and last spinose. Tibiae I and II with a double series of 5, of III and IV of 3 stout spines beneath. Protarsi I and II with a double series of 3 spines, of IV with a irregular series beneath. Tarsi, protarsi I and II, and apex of tibia slightly, tarsi and protarsus III and tarsi and apex of protarsus IV clothed with thick scopula. Femora, tibia, and protarsi III and IV clothed beneath with golden-yellow hairs, I and II with pubescence only. Tarsal claws 2, with claw-tuft on each side; armed on inner side with 3 small denticules. Spinners 6, anterior pair and posterior pair two--jointed. Vulva consisting of a broad dark chitinous plate, emarginate before, broadly truncate behind (towards spinners), with two curved yellow side-pieces. Total len. 40, carap. 15,75 mm; Legs — I: 62,5; II: 59; III: 47,5; IV: 62,5 mm; pat. + tib. I: 23, IV: 19; III: 15 mm.

A single female of this species, the largest of the group met with, was taken by myself in the forest near Santarém. It was started from the palm-leaf thatch of a hut in the forest, in which we have taken refuge from the rain. 1902, p. 409: "Females-Tibia and tarsus of pedipalps with thick pad of short hairs on the inner side. Patella and tibia I much longer than IV; vulva without pair of longitudinal dark ridges. Tibia and tarsus of pedipalp black, with two narrow, sulphur-gray, longitudinal lines in front. Inner side of femur I sulphur-grey. Mandibles black, clothed with scarlet hairs in front; a band of black hairs along the side, followed by a narrow band of scarlet hairs, passing into sulphur-grey at the base of the mandible. Vulva emarginate anteriorly. Size 40 mm". Petrunkevitch, A., 1911, p. 476. Vellard, J., 1936, p. 173.

Phoneutria reidyi Mello-Leitão, C. de, 1936, p. 15, 18. "Provàvelmente a mesma espécie como *andrewsi*. Caporiacco, L. Di, 1949, Arachnida of British Guiana. *Proc. soc. Zool.* London 118, p. 681". A great female at Bartica... *Hab.* Brazil (Amazonas). Bonnet, P., 1958, p. 3621.

13. *Phoneutria rufibarbis* Perty

Phoneutria rufibarbis Perty, M., 1833, p. 197; Pl. 39, Fig. 2. "Female; ochracea; chelicornubus rufo-hirtis; abdomine albo punctato; pedibus nigro-setulosis. Longitudo 14'". Habitat ad flumen Rio Negro dictum, provinciae ejusdem nominis. Chelicornua stipite supra rufo-hirto. Maxillae fusco-nigrae. Palpi fusco-grisei, articulis duobus ultimis lineis duabus albis. Cephal. fusco-ochraceus. Abdomen ferrugineo-ochraceum, seriebus tribus longitudinalibus punctorum alborum. Subtus fulvo-ochraceum. Pedes omnes ochracei, pilosi, punctis albis et setulis nigris e puncto quovis orientibus". Gervais 1840, p. 307; Koch, C. L.,

1848, p. 63. "Vorderleib rotbraun, Hinterleib rotgelb mit 4 Längsreihen weisser Flecken; die Fresszangen rostrot, oben dicht rot behaart; Taster und Beine ockergelb, auf ersteren zwei weisse Linien, Schenkel und Schienen unten blassgelb mit einem braunen Fleck vor der Spitze. Länge 13''' = 29 mm. Der Hügel der zwei Seitenaugen halbkugelförmig. Die Beine — unten mit wolligen und längeren Haaren. Die Taster oben braun, unten gelblich, oben zwei Längslinien gelblich weiss, die äussere oben an den Seiten weniger deutlich. Der Hinterleib auf dem Rücken 4 Längsreihen weisser Flecken, die der äusseren Reihe etwas grösser und weniger deutlich; der Bauch einfarbig ockergelb. Die Beine bräunlich ockergelb, die Shenkel und Schienenbeine unten gelb, and den Schenkeln der Vorderbeine schwefelgelb; vor der Spitze der Schenkel der 4 Vorderbeine auf der Unterseite ein breiter Querfleck braun, eben ein solcher an der Spitze der Schienbeine, aber weniger deutlich; an den Wurzeln aller Stachelborsten ein gelblich weisses Fleckchen. Mann (male) noch nicht entdeckt. *Habitat* — Brasilien.

Keyserling, E., 1881, p. 576, 577. "Weibchen. Totallänge 32,2 mm; Beine 46,6 — 41,8 — 33,5 — 46 mm; Pat. + Tib. I — 18,5; IV — 16 mm; Metat. I — 11, IV — 13,6 mm. Beide vorderen Beinpaare, unten am Ende der Schenkel und Tibien, an der ganzen Unterseite der Patellen und Metatarsen fast schwarz gefärbt. Die ersten Glieder der Palpen rot, die beiden Endglieder schwarz, unten gelb und oben dicht schwarz behaart. Der Hinterleib oben auf dem Rücken mit einem wenig sichtbaren hellem Längsbande aus helleren Dreiecken. Die Mittelaugen der Mittelreihe nur unbedeutend grösser als die beiden der obersten und untersten, aber mindestens dreimal so gross als die kleinen Seitenaugen, welche um ihren Durchmesser von ihnen und den hintersten Seitenaugen entfernt sind und nicht oder nur unbedeutend niedriger sitzen. Die vorderen Mittelaugen fast um ihren Durchmesser voneinander und um das Doppelt derselben von dem Stirnrande entfernt. Die vier Mittelaugen bilden ein Quadrat. Eine dichte und ziemlich lange Scopula an den Tarsen und Metatarsen. Am ersten Fusspaar reicht sie sogar noch bis auf die Tibien. Die Bestachelung ist folgendermassen: 1 Fuss: F. oben 3, vorn 4, hinten 3; Pat. keine; Tib. unten 5 Paare, an der Innenseite 1-2, an der aussenseite 1 ganz kleiner; Metatarsen unten 3 Paare. 2. Fuss: ebenso. 3. und 4. Fuss: Femur oben, hinten und vorne 3, Patellen hinten und vorn je 1, Tibien unten 3 Paare, jederseits und oben 2; Metarsus zahlreichere aber weniger regelmässig stehende. Brasilien: Neu Freiburg, Rio de Janeiro. In der Sammlung des Herrn Dr. Koch.

Pickard-Cambridge, F. O., 1897, p. 65, 66. "... there is not sufficient evidence as to the identity of this form. None of the authors who have adopted Perty's name mention that they have seen the original type specimen, so that one can conclude that their only evidence is drawn from Perty's description and figures. These, in the case of *rufibarbis*, are sufficient neither for generic purposes nor for specific identification. Mello-Leitão, C. De, 1936. "Existem no Brasil 9 espécies de *Phoneutria* que nos parecem tôdas apenas variedades das espécies *P. fera* e *P. rufibarbis*. *Habitat* de *rufibarbis*. Todo o Brasil desde o sul de Piauí até a Argentina". Bonnet, P., 1958, p. 3621.

Ctenus rufibarbis Walckenaer, B., 1837, p. 369. "... Nouveau Monde — Amér. Mér. — Brésil: sur les bords du Rio Janeiro". He has not seen any specimen of *Phoneutria*, but changed only the generic name of *rufibarbis* Perty to *Ctenus*, and changed also the habitat *Rio Negro* to *Rio Janeiro*. Lucas 1840, p. 366. Simon, E. 1864, p. 378; 1897, p. 108, 111. Pick.-Cambridge, O. 1897, p. 61 (in relation with Walcken. Rio de Janeiro); 1902, p. 412: *rufibarbis*

(Perty) Walck. Rio de Janeiro, *rufibarbis* Holmberg — Argentine Republic. Moenckhaus 1898, p. 78. "Piquete, Estado do Rio, and São Sebastião, Estado de São Paulo. Petrunkevitch, A. 1911, p. 476; Mello-Leitão, C. De, 1923". A female, a male and another female, Alcatrazes-island, State of São Paulo. Specimens in coll. Depart. de Zoologia, Ipiranga, São Paulo. Franganillo 1930, p. 33; 1935, p. 43; 1936, p. 102. Vellard, J., 1936, pgs. 173, 181. Roewer, F., 1954, p. 654.

Ctenus pertyi Pick-Cambridge, F. O., 1897, p. 80 — nomen novum pro *Ctenus rufibarbis* Keyserling 1881. Hab. Neu Freiburg, Rio.

14. *Phoneutria rufichelis* (Mello-Leitão)

Ctenus rufichelis Mello-Leitão, C. De, 1917. Notas arachnológicas V. Espécies novas ou pouco conhecidas do Brasil, *Broteria* 14, pgs. 12, 13; Figures 15, 16 — Male, 19 mm. *Habitat* — São João del Rei, State of Minas Gerais, Brazil; leg. Alvaro Leitão. Cephalothorax laevis, fere planus, vix eminens, longitudine latitudinem partis posterioris paulum excedens, lacte fulvo rufescens, sulco area oculorum vittaque marginali exili fuscis. Chelae rufescentes, pilis igneo-rufis erectis, crebris vestitae, margine inferiore sulci dentibus quinque, superiores dentibus 3 ornato. Laminae labiumque fulvo rufescentes, apice testaceo. Sternum coxaque fusca. Pedes rufescentes, fusco variati, femoribus supra aculeis 3-3 utrinque 2 et supra 3, metarsis I et II subtus aculeis 2-2 utrinque 2 armatis. Abdomen fuscum, supra vitta longitudinali testacea in parte antica instructum subtus pilis aureis seriatis ornata, processu apicali nigro laminoso, subtus et extus incurvato, apice bifido, tarso acuminato, valde convexo, ovato, bulbo fulvo, reniformi foveis mediis testaceis duabus atque processu nigro obtuso munito, stylo curvo. Cefalotorax liso, muito pouco elevado, quase plano, pouco mais longo que largo; 11 por 8,2 mm, pardo avermelhado claro, com o entalhe mediano, a região ocular e uma estreitíssima orla marginal muito mais escuros. Quelíceras avermelhadas, densamente revestidas de pêlos eretos, vermelhos côr de brasa. Garras mais escuras. Margem inferior do sulco ungueal com 5 dentes, o inferior um pouco menor, margem superior com 3 dentes, pouco visíveis entre as cerdas vermelhas. Maxilares e lábio da côr do cefalotórax, de pontas amareladas. Esterno e coxas fuscas. Pernas brúneo avermelhadas, lavadas de fusco, os fêmures com espinhos numerosos na face dorsal, dispostos em 3 filas paralelas, com 1 pequeno espinho na face posterior; tíb. I e II com 5-5 espinhos inferiores, 3 de cada lado e 3 superiores; III e IV com 3-3 espinhos inferiores, 2 de cada lado e 3 superiores; Metatarsos I e II com 2-3 pares de espinhos inferiores, 1 de cada lado na base e outro no ápice. Escópulas em todos os tarsos e metatarsos. Pubescência das pernas amarelo doirada, escópulas fuscas. Abdomen fusco, revestido no dorso de pubescência pouco densa amarelo parda e com uma faixa clara mediana, ocupando a metade anterior; de cada lado da faixa correm duas ordens de manchas indistintas, confluentes atrás, indo quase até as fiandeiras. Ventre muito densamente revestido de curta pubescência alaranjada, tendo de cada lado uma linha clara, ponteada muito finamente. Palpos da côr das pernas, fuscos nos dois últimos segmentos; tíbia maior que a patela, com uma linha dorsal longitudinal de pêlos doirados; apófise apical negra, laminosa, curva para baixo e para fora, levemente bífida na ponta; tarso ponteagudo, muito convexo, ovóide, o bulbo avermelhado, brúneo, ocupando a face inferior do tarso, nos dois terços basais, reniforme, com 2 fossetas claras no meio e 1 apófise negra curta e obtusa; estilete delgado, ponteagudo, curvo, terminando pouco adiante da apófise. "2.ª fila de olhos direita. Abdomen 9 por 5,7 mm". Roewer, F., 1954, p. 654.

Phoneutria rufichelis Mello-Leitão, C. De, 1936, p. 15. Bonnet, P. 1958, p. 3622.

15. *Phoneutria sus* (Strand)

Ctenus sus Strand, E., 1910, pgs. 300, 301. "Ein Männchen von Surinam (Michaelis). Totallänge mindestens 31 mm; Cephalot. ohne Mandibeln 15 mm lang, 11,5 mm breit, vorn 6 mm breit; Abdomen 13 mm lang, 8 mm breit Palpen: Fem. 7,5; Pat. 3; Tib. 3,6, Tars. 6 mm lang und 3 mm breit = 20,1 mm. Beine — I: F. 20; Pat. 7; Tib. 20; Metat. 20; Tar. 5,5 = 72,5 mm; II: 18,5; 7; 17,5; 5 = 65,5 mm; III: 14,5; 6; 16; 23,5; 5 = 52 mm; IV: 18,5; 6; 16; 23,5; 5 = 69 mm. Färbung nicht mehr genau zu erkennen; in Flüssigkeit erscheinen Cephalothorax und Extremitäten hell rötlich oder braun gelb, jedenfalls Beine I und II mehr gelblich, unten in der Endhälfte der Femuren und Tibien geschwärzt, alle Metatarsen wegen der Scopulierung unten geschwärzt; Mandibeln wahrscheinlich violettlich braun; Unterseite der Coxen und des Cephalothoraxes nur unbedeutend dunkler. Abdominalrüken hat wahrscheinlich vorn eine hellere Längsbinde und hellere Paarflecken gehabt. Ob Bauchfeld dunkler, bleibt fraglich. Tibialglied der Palpen am Ende aussen mit einem kräftigen, 2,5 mm langen, stark abstechendem und daher auffallendem Hacken versehen, der von oben, bzw. von vorne gesehen, wie aus 2, allerdings allmählich ineinander übergehenden Tasten zu bestehen scheint: der basale dicker, besonders an seiner Basis, nach aussen und ein klein wenig nach vorn gerichtet, am Ende, etwa im Niveau mit der Spitze des Gliedes reichend, während die Apikalhälfte des Hackens parallelseitig, gerade nach vorn etwa parallel zum Gliede gerichtet und am Ende aussen schräggeschnitten erscheint. Von der Seite gesehen, erscheint er am Ende oben abgeschnitten (die untere Ecke also erhalten und zugespitzt). Der Längsfortsatz am Innenrande des Bulbus nicht hackenförmig gebogen, vor der Spitze, an der Aussenseite mit einem kurzen, plattenförmigen, nach unten gerichtetem, etwa senkrecht zu der Längsachse des Hautpfortsatzes, gestelltem Forsatz und gegenüber, an der entgegengesetzten inneren oder vorderen Seite des erstern befindet sich eine höckerförmige Verdickung. Tibial- und Tarsalglied innen dicht scopulaähnlich behaart." Petr. 1911, p. 478. Roewer, Fr. 1954, p. 656. Bonnet, P. 1958, p. 1290.

Phoneutria sus Caporiacco 1949, p. 681: In Dutch Guiana lives, too, *Ctenus sus* Strand, which, judging from the description, is surely a *Phoneutria*".

Discussion

The definitive elucidation about the "good" and really "objective" species among those described for the genus *Phoneutria* will constitute an arduous and laborious task. Too old and unsufficient descriptions, which do not permit to recognize the species or distinguish one from the other; "subjective" descriptions of new species, usually based on one single sample, being the opposite sex unknown up to now; the irreparable loss of the types from the old collections as well as from C. Mello-Leitão's material; the fact of species having been described (usually one sample) from distant and less accessible places such as Surinam, Santarém, Belém surroundings, Rio Negro, Colombia, Bolivia, Paraguai, Southern and Central Brazil — all this will demand a pacient gathering of these rare arachnida, an international cooperation among the arachnologysts in the search of the specimens, and also patient and detailed comparisons, mainly of the male copulating bulbs.

It seems correct to establish, since now, three groups of *Phoneutria*: a) *An Amazonic group* (*fera, rufibarbis, reidyi, andrewsi, sus* and *ochracea*), certainly reducible to 2 or 3 species. *Fera* and *rufibarbis,* and possibly *ochracea,* have been captured by Spix and Martius, the first one "at Rio Negro banks". *Reidyi* and *andrewsi* are very much alike and resemble *rufibarbis.*

b) *A group from Southern Brazil, Uruguai, Argentina and Paraguai,* where the species *nigriventer* seems to be the best known.

c) The third group is the *Bolivian group* (*P. boliviensis, bolivicola* (?), *colombiana*), according to Cambridge and Strand showing much resemblance to the Amazonic group and partially to *nigriventer* (Strand).

The species *luederwaldti, niveobarbata, paca* and *rufichelis* will probably not resist to the synonymisation to the older species, since really "objective" comparative elements are available.

Summary

As an introduction to the systematic revision of species of the genus *Phoneutria* Perty the bibliography of the species with the principal topics of original descriptions is presented, their primary synonyms, including the sex, type-locality, and the deposition of the type-specimens in official collections (when known).

Resumo

Como preâmbulo a uma revisão sistemática das espécies do gênero *Phoneutria* é apresentada a bibliografia tanto quanto nos foi possível reuni-la, incluindo informações sôbre os tipos, os sexos dos especimens descritos, os locais de captura e as coleções, onde os tipos estão ou estavam depositados.

ARANHAS DA FAMÍLIA CTENIDAE, SUBFAMÍLIA PHONEUTRIINAE

VII. CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE *PHONEUTRIA FERA* PERTY, 1833. REVALIDAÇÃO E SINONÍMIAS DE *PHONEUTRIA RUFIBARBIS* PERTY, 1838 *

V. DESSIMONI von EICKSTEDT, S. LUCAS e W. BÜCHERL **

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Como já mencionamos em trabalhos anteriores (1, 2, 3), Perty, em 1833, descreveu como novos o gênero *Phoneutria* e as espécies *rufibarbis* e *fera*, baseadas em duas fêmeas, capturadas por Spix e Martius às margens do Rio Negro, na província do mesmo nome, Brasil e então depositadas no Gabinete Real de Munique. Embora a descrição tivesse sido sumária, é, contudo, suficiente para justificar o gênero.

C. L. Koch (4), em 1848, descreveu o primeiro macho de *Phoneutria fera* citando também uma fêmea, e redescreveu uma fêmea de *rufibarbis*, devendo êstes especimens terem sido depositados em sua coleção particular em Nürnberg. Nem a procedência dada por Koch, que é apenas "Brasília", nem o texto, oferecem elementos suficientes para se poder afirmar com certeza que estas aranhas realmente pertençam às espécies amazônicas de Perty, não se podendo excluir, porém, a possibilidade dêste autor ter trabalhado com material da coleta de Spix e Martius (a fêmea de *Phoneutria fera* estudada por Koch tem a mesma medida do exemplar de *Phoneutria fera* de Perty).

Em 1897, Cambridge (5) descreveu duas novas espécies de *Phoneutria*: *reidyi* e *andrewsi*, não as comparando com as de Perty. No mesmo trabalho justificou a designação de *fera* como tipo do gênero *Phoneutria*, por considerar *rufibarbis*, "forma ignota".

Vinte anos depois, Strand (6) descobriu no Museu de Zoologia de Berlim e redescreveu o exemplar tipo de *Phoneutria fera*, etiquetado pelo próprio Perty. Infelizmente, o exemplar, sêco e espetado em alfinete, já nessa época encontrava-se com a região ocular parcialmente lesada e sem abdomen, impossibilitando a observação do epígino e de pormenores do colorido.

Walckenaer (7), Gervais (8), Holmberg (9), Keyserling (10, 11), Goeldi (12), Simon (13), Moenkhaus (14) e outros autores mais recentes mencionaram ou redescreveram diversos especimens, capturados desde a Argentina e sul do Brasil até o Rio de Janeiro, atribuindo-lhes errôneamente, o nome de *fera* ou *rufibarbis*, como já assinalara Cambridge (5) ao alterar os nomes *fera* e *rufibarbis* de Keyserling para *keyserlingi* e *pertyi*, respectivamente.

---

* Trabalho realizado sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

** Bolsista do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan, Ex-Chefe da Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan.

Recebido para publicação em 17 de junho de 1968.

De acôrdo com consultas feitas aos colegas W. Engelhardt (Munique), O. Kraus (Frankfurt), W. Crome (Berlim) e G. Rack (Hamburgo) é pouco provável a atual existência dos tipos de Perty e dos exemplares da coleção de Koch.

Como os exemplares estudados dêste gênero, procedentes da região amazônica, são, até esta data, em número muito limitado, achamos interessante realizar o presente trabalho, baseado em onze especimens coletados nessa zona.

Phoneutria fera Perty, 1833

1833 *Phoneutria fera* Perty, *Delect. Anim. Artic.*, p. 197, Pl. 39, Fig. 3 — Margens do Rio Negro, Amazonas, Brasil, Spix e Martius col. 1817-1820, Gabinete Real de Munique, Holótipo fêmea, por designação de Cambridge, 1897.

1848 *Phoneutria fera* C. L. Koch, *Die Arachniden, 15*: 60, Pl. DXX, Fig. 1459 — 1 macho e 1 fêmea, Brasil, Col. part. C. L. Koch, Nürnberg, provàvelmente perdidos.

1917 *Ctenus ferus* Strand, Arachnol. Var., *Arch. Naturg.*, *82*A(2): 72 — redescrição do tipo de Perty, Museu de Zoologia de Berlim, provàvelmento perdido.

Diagnose

Aranha marron escura, revestida por pêlos amarelo-acinzentados. Artículo basal das quelíceras, na face anterior, com pêlos castanhos, que passam a vermelho junto ao sulco ungueal. Face dorsal dos três últimos artículos do palpo percorrida por uma larga faixa longitudinal, mediana, escura. Dorso do abdomen com manchas claras.

Descrição

Medidas (em mm): Compr. total (com quel.): 39. Cefalot.: 17 compr.; 13 larg. max.; 7,5 larg. frente. Esterno: 8 compr.; 6 larg. Lábio: 3 compr.; 2,3 larg. meio. Epígino: 3,8 compr.; 3,5 larg. incluindo peças laterais.

Pernas:

	Fêmur	Patela	Tíbia	Metat.	Tarso	Total
I	17,5	7,5	19,5	17	4	65,5
II	16,5	7,5	16	15	4	59
III	13,5	6,5	12	12	4	48
IV	17,5	6,5	15,5	20,5	4,5	64,5

Colorido: Aranha de colorido marron escuro, revestida de curtos pêlos amarelo-acinzentados. Artículo basal das quelíceras, em sua face anterior, com pêlos castanho-amarelados, que passam a vermelho junto à margem superior do sulco ungueal. Lábio e lâminas maxilares denegridos, ápice das últimas com fímbria de pêlos alaranjados. Abdomen dorsalmente com três faixas claras, longitudinais: uma mediana, que parte da base e vai até pouco antes da metade do dorso e duas laterais a ela, formadas por pares de manchas claras, que se dirigem

para as fiandeiras. Indícios de linhas oblíquas de manchas claras, dorso-ventrais. Ventre com 4 linhas longitudinais de sigilas, convergentes para as fiandeiras. Face dorsal das patelas, tíbias e tarsos dos palpos com uma faixa mediana escura, quase negra, acompanhada de ambos os lados por pêlos cinza-claros. Escópulas dos palpos e da face ventral das pernas cinza-escuras, quase negras. Fêmures I e II com mancha escura, ventral, subapical. Pernas posteriores com longos pêlos amarelados na face ventral.

Morfologia: *Cefalotórax* mais longo que largo, com fóvea longitudinal distinta e pouco profunda; perfil cefalotorácico plano; clípeo vertical. *Olhos*: os quatro medianos formando um quadrângulo, ligeiramente mais estreito na frente; M.A. distantes entre si e dos M.P. pouco menos de um seu diâmetro; M.P. distantes entre si e dos L.A. pouco mais de um raio dos M.P.; L.P. distantes entre si pouco mais de 4 vêzes seu diâmetro; segunda fila ocular levemente procurva; M.P. um pouco maiores que os M.A., L. P. um pouco maiores que os M.P. *Quelíceras*: cinco dentes na margem inferior do sulco ungueal, o interno, o menor e os quatro outros, grandes e aproximadamente iguais; margem superior com três dentes, o médio, o maior. *Lábio* e *esterno* mais longos que largos. *Pernas* (1.4) 2.3. Escópula em tôda a face ventral dos tarsos e metatarsos I e II, nos 4/5 apicais do metatarso III e nos 2/3 apicais das tíbias I e II. Tarsos com duas garras terminais munidas de 3 dentes nítidos, seguidos por uma fileira de dentículos. Longos pêlos amarelados revestindo tôda a face ventral dos fêmures, patelas e tíbias III e IV, formando um tufo basal no metatarso III e ocupando todo o metatarso IV. *Espinulação* (dm = dorso-mediano; la = lateral anterior; lp = lateral posterior; v = ventral; ap = apical):

Perna	Fe	Pa	Ti	Met
I	3 la, 3dm, 4 lp	0	10v (5 pares)	6v (3 pares)
II	4 la, 3dm, 4 lp	0	10v (5 pares)	6v (3 pares)
III	4 la, 3dm, 4 lp	1 la, 1 lp	6v (3 pares) 2 la, 3dm, 2 lp	6v (3 pares) 4 la, 3 lp, 2d ap
IV	4 la, 3dm, 4 lp	1 la, 1 lp	6v (3 pares) 2 la, 3dm, 2 lp	vários (16-17) irreg. disp.

Palpos: com escópula nítida na face anterior das tíbias e tarsos e uma garra com cinco dentes grandes, seguidos por outros muito pequenos. Espinulação: fêmur com 4 d.ap. e 1 dm.; patela: 1 la; tíbia: 1 lp, 1 dm, 2 la, 1 d. ap.; tarso: 3 la, 2 lp.

Epígino: formado por uma placa fortemente quitinizada e duas peças laterais, curvas para dentro (Fig. 1).

Material e procedência: ♀ N.° C. 3945, Dep. Zool. Secr. Agr. S. Paulo, Pe. Pereira col. 1964, Tapurucuara, Amazonas, Brasil.

Phoneutria rufibarbis Perty, 1833

1833 *Phoneutria rufibarbis* Perty, *Delect. Anim. Artic.*, p. 197, Pl. 39, Fig. 2 — Holótipo fêmea, Margens Rio Negro, Amazonas, Brasil, Spix e Martius col. 1817-1820, Gabinete Real de Munique. Perdido.

1848 *Phoneutria rufibarbis* C. L. Koch, *Die Arachniden, 15*:63, Pl. DXXI, Fig. 1461 — 1 fêmea, Brasil, Col. part. C. L. Koch, Nürnberg. Provàvelmente perdido.

1897 *Ctenus reidyi* F. O. P. Cambridge, *Ann. Mag. Nat. Hist. 19* (Ser. 6): 78, Pl. III, Fig. 1a, 2a — 1 fêmea, Santarém, Baixo Amazonas, F. O. P. Cambridge col., Museu Britânico (História Natural).

1897 *Ctenus andrewsi* F. O. P. Cambridge, *Ann. Mag. Nat. Hist., 19* (Ser. 6): 79, Pl. III, Fig. 2b — 2 fêmeas, Santarém e Pará, Baixo Amazonas, Museu Britânico (História Natural).

Outros exemplares de *Phoneutria reidyi* e *andrewsi* da região amazônica, foram citados também por Mello-Leitão (15), que menciona uma fêmea capturada no Alto Juruá e por Caporiacco (16), que cita uma fêmea de Bartica, Guianas Britânicas.

Em 1897, F. O. P. Cambridge (5) considerou *P. rufibarbis* "forma ignota", no que não foi apoiado por autores posteriores. Pràticamente do mesmo biótopo de *P. rufibarbis*, descreveu nessa mesma data, 2 espécies novas de *Ctenus*, que posteriormente foram colocadas sob *Phoneutria* (15): *reidyi* e *andrewsi*.

Os dois exemplares de *reidyi* e *andrewsi* só se diferenciam, conforme o próprio autor assinala, apenas pela presença ou não de pontos brancos no dorso do abdomen, pelo tamanho e pelo epígino.

Tendo à nossa disposição vários exemplares de *Phoneutria* da região amazônica, cujos caracteres morfológicos são plenamente concordantes com os das espécies de Cambridge, pudemos avaliar que os caracteres específicos diferenciais apontados são apenas variações individuais: "a série dupla dorsal de três pontos brancos conspícuos e 3 menores e menos conspícuos de cada lado da linha central" do dorso do abdomen ora se apresenta muito nítida ora é pràticamente inexistente; o tamanho não é, como se sabe, caráter específico; o fato de o epígino ser mais longo que largo em *andrewsi* e pràticamente tão largo quanto longo em *reidyi* não é suficiente para distinguir duas espécies quando se tem vários exemplares de uma mesma espécie à disposição (Figs. 2 a 4); as duas peças laterais curvas que Cambridge cita como presentes apenas no epígino de *reidyi*, são provàvelmente excreções que ficam aí aderidas e endurecem com o tempo, pois são fàcilmente removíveis, não constituindo parte integrante do epígino. Levantando-se, cuidadosamente, essa "peça", observa-se por baixo dela o tubérculo prêto que Cambridge cita como presente em *andrewsi*. Para confirmar nossas observações, consultamos o Dr. D. J. Clark do Museu Britânico (História Natural) que, examinando os exemplares tipo, verificou que de fato as peças curvas do epígino de *reidyi* são excreções e quando elas são removidas, os dois epíginos não se distinguem.

Cambridge, dando ùnicamente importância à disposição da segunda fila ocular dos seus exemplares, não os colocou sob *Phoneutria* e assim não os comparou com as duas espécies mais antigas do gênero. Verificamos também que os nossos especimens, além de concordarem com a minuciosa descrição de Cambridge, também se enquadram perfeitamente nos caracteres apontados por Perty para *Phoneutria rufibarbis*.

Pelo exposto, conclui-se que *P. reidyi* e *andrewsi* são sinônimas entre si e idênticas à *Phoneutria rufibarbis* Perty.

MATERIAL

Damos, a seguir, a relação de 4 dos exemplares de *Phoneutria rufibarbis* estudados:

♀ N.º 6305 — Col. Dep. Zool. Secr. Agric. S. Paulo, exped. 20/X/59, Rodovia Belém-Brasília, Km. 93, Pará, Brasil.

Medidas (em mm):

Cefalot.: 15 x 12,5 — Lábio: 2,5 x 2
Esterno: 7 x 5,5 — Compr.: 37 (com mand.)

Pernas:

	Fe	Pa+Ti	Met.	Tarso	Total
I	16,5	24	14,5	4	59
II	16	21,5	13,5	4	55
III	13	16	11	4	44
IV	15,5	19,5	18	4,5	57,5

♀ N.º 6328 — Col. Dep. Zool. Secr. Agric. S. Paulo, exp. Dep. Zool. 20/IV/67, Margem esquerda Rio Negro, abaixo ilha Anavilhana, Amazonas, Brasil.

Medidas (em mm):

Cefalot.: 14 x 11 — Lábio: 2,5 x 2,1
Esterno: 6,5 x 5,5 — Compr.: 36 (com mand.)

Pernas:

	Fe	Pa+Ti	Met	Tarso	Total
I	15,5	22	13	4	54,5
II	14,5	20	12	4	50,5
III	12	15	9,5	4	40,5
IV	14,5	18	16	4,5	53

♀ N.º 6313 — Col. Dep. Zool. Secr. Agric. S. Paulo, Vanzolini col. 1-5/IV/67, Boca Purus, Amazonas, Brasil.

Medidas (em mm):

Cefalot.: 13 x 10,5 — Lábio: 2,4 x 1,9
Esterno: 5,5 x 5 — Compr.: 27,5 (com mand.)

Pernas:

	Fe	Pa+Ti	Met.	Tarso	Total
I	12	18	11	3	44
II	11	16	9,5	3	39,5
III	9	12,5	7,5	3	32
IV	11,5	15	13	3,5	43

♀ N.º 2002 — Col. Inst. Butantan, Reinaldo Damasceno col., Macapá, Território Amapá, Brasil.

Medidas (em mm):

Cefalot.: 16 x 12 — Lábio: 3 x 2,5
Esterno: 7 x 5 — Compr.: 40 (com mand.)

Pernas:

	Fe	Pa+Ti	Met.	Tarso	Total
I	16	23,5	14,5	4	58
II	15	21	13	4	53
III	12,5	16	10,5	3,5	42,5
IV	15	19,5	17	4	55,5

Além dêsses 4 exemplares, tivemos em mãos uma fêmea adulta de Utinga, Pará (N.° 2169 Col. Inst. Butantan), uma fêmea e um macho jovem de Iquiri, Território do Acre (N.° 2435 Dep. Zool. Secr. Agric. S. Paulo) e uma fêmea e 2 machos jovens do Rio Tracajatuba, Território do Amapá (N.° 1957 Col. Inst. Butantan).

Para complementar a descrição de Cambridge, fornecemos em seguida alguns pormenores sôbre o colorido e a morfologia externa de *P. rufibarbis*: Abdomen com pares de pontos brancos no dorso e filas oblíquas de manchas brancas indo da região dorsal até o ventre; quatro filas longitudinais de pequenas sigilas na região ventral, as 2 mais anteriores e centrais, maiores e cercadas por pêlos claros. Compridos pêlos amarelados revestindo tôda a face ventral dos fêmures, pat. e tíbias III e IV, ocupando a 1/2 basal do met. III e pràticamente todo o met. IV. Escópula em tôda a face ventral dos tarsos I a IV e met. I e II, nos 2/3 apicais do met. III, no ápice do met. IV e no têrço apical da tíbia I. Espinulação das pernas e dos palpos como a descrita para *fera*, notando-se pequenas diferenças individuais quando se comparam os diversos exemplares.

Diagnose diferencial: Distingue-se *P. fera* de *P. rufibarbis* pelo epígino, pela presença de um desenho formado por manchas claras no dorso do abdomen em *fera* e de uma série dupla de pontos brancos em *rufibarbis*, pelo colorido dos pêlos da face anterior do artículo basal das quelíceras, castanho em *fera* e vermelho em *rufibarbis*, pela existência de uma larga faixa long. mediana escura nos 3 últimos artículos do palpo de *fera* e de 2 linhas claras long. paralelas em *rufibarbis*. Quanto à *boliviensis* Cambridge, 1897, distingue-se de *rufibarbis* pelo desenho do dorso do abdomen, pelo epígino (Cambridge o compara com os de *keyserlingi* e *nigriventer*, que são muito diferentes do de *rufibarbis*). O exemplar descrito neste trabalho como *P. fera* assemelha-se bastante com *Phoneutria boliviensis* Cambridge mas difere dela pelo epígino, que não se parece com o de *nigriventer*.

Discussão

O estudo do material amazônico disponível revelou que a espécie *rufibarbis* de Perty é bem definida e válida, não se justificando a designação de "forma ignota" feita por Cambridge. O exemplar procedente de Tapurucuara foi classificado como *P. fera*, apesar de apresentar desenho nítido no dorso e lados do abdomen porque tudo faz supor que tenha sido capturado num biótopo semelhante ao do tipo de *fera*. Além disso, como êle distingue-se nìtidamente dos specimens de *rufibarbis* estudados e como Cambridge designou *fera* o tipo do gênero e êste nome já está consagrado na literatura, achamos ser êste o procedimento mais acertado.

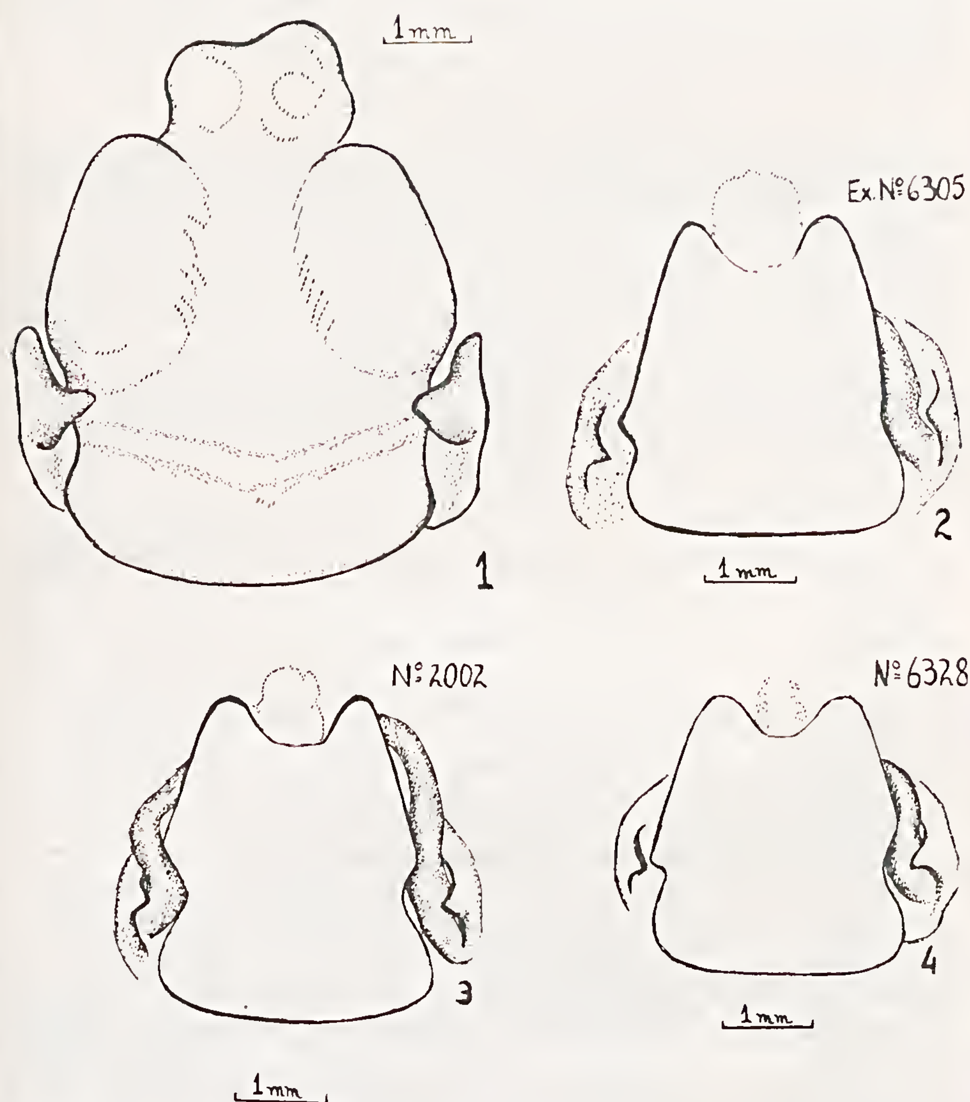


Fig. 1 — *Phoneutria fera* Perty, 1833, epígino, face ventral.

Fig. 2-4 — *Phoneutria rufibarbis* Perty, 1833, epígino, face ventral.

Resumo

Uma fêmea adulta de *Phoneutria fera,* Perty, 1833, procedente de Tapurucuara, junto ao Rio Negro, Amazonas, é descrita e sua posição específica é justificada. É demonstrado que as espécies amazônicas *Phoneutria reidyi* e *andrewsi* são sinônimas entre si e idênticas à *Phoneutria rufibarbis.*

Summary

An adult female of *Phoneutria fera* Perty, 1833 from Tapurucuara, on the Rio Negro, Amazonas, is described and its specific position is discussed. The Amazonean species, *Phoneutria andrewsi* and *Phoneutria reidyi* (Cambridge), 1897 are synonymous of the older species *Phoneutria rufibarbis* Perty, 1833.

Agradecimentos: Agradecemos aos Drs. P. E. Vanzolini e P. de Biasi, Dep. Zool. Secr. Agric. S. Paulo, pelo empréstimo do material que possibilitou êste trabalho, ao Dr. D. J. Clark, British Museum (Natural History) pelo exame dos tipos de Cambridge, aos Drs. W. Engelhardt, Zoologisches Sammlung des Bayrischen Staates, Munique, O. Kraus, Senckenberg Museum, Frankfurt, W. Crome, Zoologisches Museum, Berlim, e G. Rack, Zoologisches Staatsinstitut und Zoologisches Museum, Hamburgo pelos esclarecimentos sôbre o destino dos tipos e coleções antigas.

Bibliografia

1. *Bücherl, W.; Lucas, S. e Dessimoni, V.* — Redescrição dos gêneros *Ctenus* Walckenaer, 1805 e *Phoneutria* Perty, 1833, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:95-102, 1964.
2. *Bücherl, W.* — Phoneutriinae, subfamília nova. *Mem. Inst. Butantan,* **34**:25, 1969.
3. *Bücherl, W.; Lucas, S.; Von Eickstedt, V.* — Bibliographia Phoneutriarum, *Mem. Inst. Butantan,* **34**:47, 1969.
4. *Koch, C. L.* — *Die Arachniden,* **15**:60-63, 1848.
5. *Cambridge, F. O. P.* — On Cteniform Spiders from the Lower Amazons, *Ann. Mag. Nat. Hist.,* **19** (Ser. 6):78-79, 1897.
6. *Strand, E.* — Arach. Var., *Arch. Naturg.,* 82A(2):72, 1917.
7. *Walckenaer, M.* — *Histoire Naturelle des Insectes Aptères,* **1**:369-370, 1837.
8. *Gervais, P.* — Articles sur les Araignées, *Dic. sci. nat.,* **1**:307, 1840.
9. *Holmberg, E. L.* — Arácnidos argentinos, *An. agr. Arg.,* **4**:26, 1876.
10. *Keyserling, E.* — *Die Spinnen Amerikas. Brasilianische Spinnen,* **3**:145, 1891.
11. *Keyserling, E.* — Neue Spinnen aus Amerika, *Verh. zool. bot. Ges. Wien,* **30**: 576, 1881.
12. *Goeldi, E. A.* — Orientierung in der Spinnenfauna Brasiliens, *Mitt. Osterl.* **5**:213, 1892.
13. *Simon, E.* — Liste des Arachnides recueillis aux îles du Cap-Vert, dans la Republique Argentine et le Paraguay, *Boll. Mus. zool. anat. comp. Torino,* **12** (270):2-3, 1897.
14. *Moenkhaus, W. J.* — Contribuição para o conhecimento das aranhas de S. Paulo, *Rev. Mus. Paulista,* **3**:78,1898.
15. *Mello-Leitão, C.* — Contribution à l'étude des Ctenides du Brésil. *Festschr. Strand* **1**:15-18, 1936.
16. *Caporiacco, L.* — Arachnida of British Guiana. *Proc. Zool. Soc. London,* **118**:681, 1948-49.

REVISÃO DOS TIPOS DE *PHONEUTRIA PACA* (MELLO-LEITÃO), 1922 E *PHONEUTRIA LUEDERWALDTI* (MELLO-LEITÃO), 1927 (ARANEAE; LABIDOGNATHA; CTENIDAE) *.

VERA REGINA DESSIMONI VON EICKSTEDT e SYLVIA LUCAS

Secção Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Introdução

Mello-Leitão, em 1922 (1) e 1927 (2), descreveu duas novas espécies pertencentes ao gênero *Ctenus*: *paca* e *luederwaldti*, que o próprio autor, em 1936 (3), ao fazer a revisão dos Ctenídeos brasileiros, colocou sob o gênero *Phoneutria*. A fim de verificar a validade dessas espécies, examinamos o material-tipo pertencente à coleção aracnológica do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo.

Revisão dos tipos

Phoneutria paca (Mello-Leitão), 1922

Holótipo fêmea N.º 537, A, Coleção aracnológica Depto. Zool. Secr. Agric. Paulo e em todo o sul do Brasil.

Comparando a descrição original com o exemplar catalogado como tipo verifica-se uma sensível discrepância em relação às medias e à espinulação.

O texto de Mello-Leitão não oferece elementos suficientes para distinguir esta sua espécie de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling), 1891, que é comum em São Paulo e em todo o sul do Brasil.

Mello-Leitão distinguia (3) as duas espécies apenas pela presença ou não de três linhas oblíquas formadas de pequenos pontos claros, partindo do dorso do abdomen. Verificamos que em *Phoneutria nigriventer*, tanto em animais vivos como em exemplares da coleção do Instituto Butantan, êsse desenho ora se apresenta muito nítido, ora pràticamente inexiste.

O estudo da evolução do epígino, por nós observada em numerosos exemplares de *Phoneutria nigriventer*, criados em laboratório, permite-nos afirmar que o epígino de *Phoneutria paca* corresponde a uma das fases jovens do desenvolvimento do epígino de *Phoneutria nigriventer* (Fig. 1).

A observação detalhada do tipo confirma que *Phoneutria paca* é um exemplar imaturo de *Phoneutria nigriventer*.

---

* Trabalho realizado sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan. Recebido para publicação em junho de 1969.

Phoneutria luederwaldti (Mello-Leitão), 1927

Holótipo fêmea N.º 823 (atual N.º 940), Coleção aracnológica do Depto. Zool. Secr. Agric. S. Paulo, H. Luederwaldt leg. XI-1924, Blumenau, Santa Catarina.

O tamanho (20 mm), o aspecto do epígino (Fig. 2) e o desenho do ventre revelam tratar-se de uma fêmea jovem de *Phoneutria nigriventer,* espécie freqüente em várias localidades de Santa Catarina, conforme foi verificado nos catálogos da coleção do Instituto Butantan.

O desenho, tido por Mello-Leitão como tão característico dessa espécie, é apenas uma fase evolutiva do colorido ventral: em exemplares muito jovens nota-se, junto ao sulco epigástrico e depois também adiante das fiandeiras, uma estreita faixa negra que, com o desenvolvimento do animal, vão-se alargando até se unirem completamente, formando um único campo triangular negro nas fêmeas adultas, fato êste já observado por Bücherl (4).

Pelo que foi expôsto, pode-se afirmar que também esta espécie não deve ser considerada válida por ser sinônima de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling), 1891.

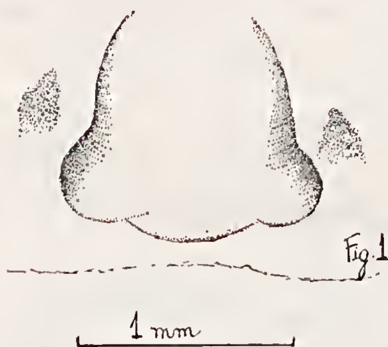


Fig. 1 — Epigino de *Phoneutria paca* (Mello-Leitão), 1922. Vista Ventral.



Fig. 2 — Epigino de *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927 vista ventral

Resumo

Phoneutria puca (Mello-Leitão), 1922 e *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927 são sinônimas de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling), 1891.

Summary

Phoneutria paca (Mello-Leitão), 1922 and *Phoneutria luederwaldti* (Mello-Leitão), 1927 are synonymous of *Phoneutria nigriventer* (Keyserling), 1891.

Agradecimentos: Agradecemos ao Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo pelo empréstimo do material que possibilitou a execução deste trabalho.

Bibliografia

1. *Mello-Leitão, C. F.* — Novas Clubionidas do Brasil, *Arch. Esc. sup. agr. med. veter.*, **6**:41, 1922.

2. *Mello-Leitão, C. F.* — Arachnideos de Santa Catharina, *Rev. Mus. paul.* **15**:403, 1927.

3. *Mello-Leitão, C. F.* — Contribution à l'étude des Cténides du Brésil, *Festschr. Strand,* **1**:15, 1936.

4. *Bücherl, W.* — Aranhas do Rio Grande do Sul, *Mem. Inst. But.*, **24**(2):136, 1952.


cm 1 2 3 4 5
SciELO
9 10 11 12 13 14

ESTUDOS SISTEMÁTICOS SÔBRE ARANHAS CARANGUEJEIRAS

DESCRIÇÃO DA FÊMEA DE *ACANTHOSCURRIA MUSCULOSA* SIMON, 1892, (AVICULARIIDAE, THERAPHOSINAE). *

KLAUS E. STEWIEN

Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Em 1892, descreveu Simon o macho de *A. musculosa* de San Mateo, Bolívia, e Mello-Leitão, em 1923, redescreveu a espécie com machos de Cáceres, Mato Grosso, conservados na coleção aracnológica do Departamento de Zoologia de S. Paulo. De então para cá, a espécie não mais foi estudada.

MATERIAL

A descrição da fêmea de *A. musculosa* foi baseada no estudo comparativo de 25 exemplares, dos quais 16 vivos, suas exúvias, além de 9 exemplares conservados da coleção do Instituto Butantan.

O material é procedente do Estado de Mato Grosso das seguintes localidades: 17 indivíduos de Cáceres, 4 de Agachi, 1 indivíduo de Salobra, 1 de Corumbá e 1 do Rio Cuiabá.

Descrição — Exemplar n.º 3.756, Coleção Aracnológica Instituto Butantan — fêmea, Cáceres, Mato Grosso, Instituto Santa Maria leg. 24-1-66.

Dimensões — Comprimento total: 70,0 mm;

Cefalotórax — comprimento: 27,0 mm; largura: 25,5 mm;

Esterno — comprimento: 13,0 mm; largura: 8,0 mm;

Pernas — comprimento: I = 78,5 mm; II = 70,5 mm; III = 68,5 mm; IV = 81,5 mm;

Patela + tíbia I = 24,0 mm; patela + tíbia IV = 23,5 mm.

Dimensões médias de 8 exemplares — Comprimento total médio: 65 mm.

---

* Trabalho realizado sob os auspícios do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan, e sob a orientação de W. Buecherl.

Recebido para publicação em 1 de fevereiro de 1966.

Cefalotórax — comprimento médio: 22,0 mm; largura média: 20,0 mm; a diferença percentual média da relação comprimento-largura está demonstrada na Tabela I.

TABELA I — *A. musculosa* SIMON, 1892 — VARIAÇÃO DA RELAÇÃO COMPRIMENTO-LARGURA DO CEFALOTÓRAX.

N.º	Comprimento	Largura	Dif. percentual
1	28,5	26,5	7%
2	26,5	23,5	11%
3	23,0	20,5	11%
4	22,5	20,5	9%
5	21,5	20,0	7%
6	20,0	17,5	12%
7	17,5	16,0	9%
8	16,0	14,0	12%
Média	22,0 mm	20,0 mm	10%

Rima ocular mais larga que longa, variando de sub-circular até perfeitamente elíptica (Tabela II).

TABELA II — VARIAÇÃO DA RELAÇÃO COMPRIMENTO-LARGURA DA RIMA OCULAR

N.º	Largura	Comprimento	Dif. percentual
1	2,6	1,6	39,0%
2	3,7	2,4	35,0%
3	3,2	2,2	33,3%
4	3,0	2,0	33,3%
5	3,4	2,3	32,0%
6	3,3	2,4	27,0%
7	3,7	2,8	25,0%
8	2,7	2,2	18,5%
Média	3,2 mm	2,2 mm	30,0%

Tamanho, forma e disposição dos olhos na rima ocular bastante variável (Diagrama I).

Quelíceras robustas com 10 a 12 dentes cônicos na face ventral interna; os 5 primeiros, a partir do ápice, grandes, seguidos sempre por 1 dente pequeno.

Fóvea torácica profunda e direita. Lábio na porção posterior bem mais largo que longo, apresentando na metade anterior numerosas cúspides. Esterno mais longo que largo, normalmente convexo, com sigilas posteriores elípticas, afastadas da margem no máximo por um diâmetro.

Comprimento das pernas de seqüência decrescente: IV, I, II, III.

A Tabela III mostra os comprimentos de patela + tíbia I e IV e a Tabela IV, os comprimentos do cefalotórax de 15 indivíduos. Encontram-se, também, as diferenças das relações patela + tíbia I e IV, e patela + tíbia I e o cefalotórax, bem como os valores médios.

Metatarsos I e II escopulados quase até a base, os metatarsos III, pouco mais que a metade apical, e os metatarsos IV, por um quarto apical. Escópulas internas dos fêmures do 4.º par de pernas de grande densidade. Aparelho estridu-

TABELA III — *A. musculosa* SIMON, 1892 — RELAÇÃO DOS COMPRIMENTOS DE PATELA + TIBIA I E IV.

N.º	P. + T. I	P. + T. IV	Diferença
1	25,0	24,5	0,5
2	25,0	24,3	0,7
3	24,5	24,0	0,5
4	24,0	23,5	0,5
5	24,0	23,5	0,5
6	23,8	23,2	0,6
7	23,5	23,0	0,5
8	22,5	22,0	0,5
9	22,5	22,0	0,5
10	20,2	20,0	0,2
11	20,0	19,5	0,5
13	17,7	17,2	0,5
14	16,5	16,2	0,3
15	15,5	15,0	0,5
Média	21,6 mm	21,1 mm	0,5 mm

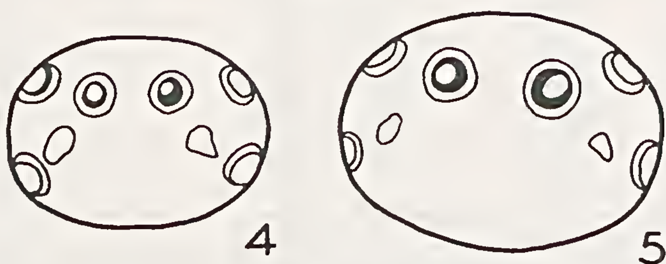
TABELA IV — *A. musculosa* SIMON, 1892 — RELAÇÃO DOS COMPRIMENTOS DE PATELA + TIBIA I E O CEFALOTÓRAX.

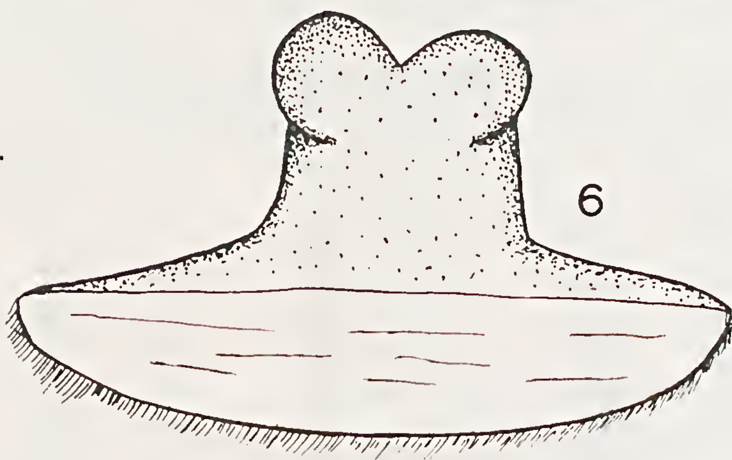
N.º	P. + T. I	Cefalotórax	Diferença
1	25,0	28,5	3,5
2	25,0	29,0	4,0
3	24,5	27,5	3,0
4	24,0	25,0	1,0
5	24,0	26,5	2,5
6	23,8	26,5	2,7
7	23,5	25,0	1,5
8	22,5	23,0	0,5
9	22,5	23,5	1,0
10	20,2	23,5	3,3
11	20,0	22,5	2,5
12	19,5	20,0	0,5
13	17,7	18,0	0,3
14	16,5	17,5	1,0
15	15,5	16,0	0,5
Média	21,6 mm	23,5 mm	1,9 mm

lante formado por 25 a 35 cerdas claviformes plumosas, dispostas na face posterior do trocânter dos palpos; na face anterior do 1.º par de pernas, poucas cerdas curtas nos trocânteres. Pernas munidas por poucos espinhos. Unhas tarsais com uma série variável de 5 a 15 pequenos dentículos. Tarsos dos palpos com uma unha ímpar muito robusta e lisa.

Espermatecas: unidas intimamente a uma bôlsa quitinosa, resultando aspecto característico, conforme Diagrama II. Nêste conjunto bôlsa-espermatecas, estas se apresentam como dois lobos fundidos e apoiados sôbre a bôlsa, cuja abertura está na extremidade inferior, sob forma de fenda total. Dimensões: altura: 3,2 mm; base da bôlsa: 8,0 mm; largura dos lobos juntos: 3,0 mm. O conjunto é quitinoso e aparece sempre na exúvia.


1
2
3


4
5


6

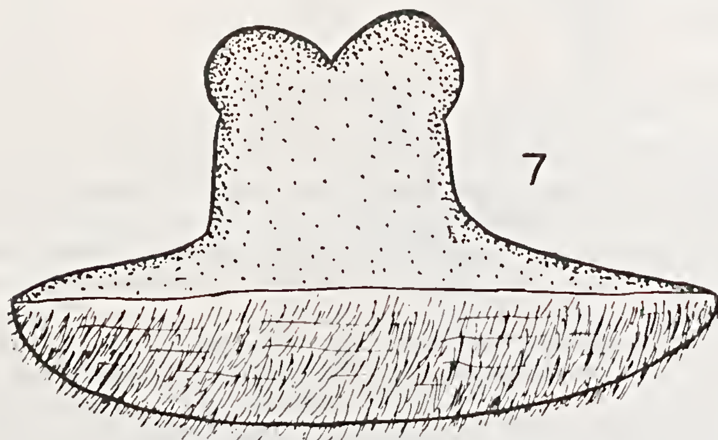

7

Fig. 1 — L.A. maiores que os L.P. e os M.A.; M.P. contiguos aos L.P.

Fig. 2 — L.A. iguais aos L.P. e aos M.A. os M.P. apenas ligeiramente menores. M.P. de disposição quase mediana entre M.A. e L.P.

Fig. 3 — L.A., L.P. e M.A. de tamanho pràticamente igual. M.P. menores e medianos entre os M.A. e os L.P.

Fig. 4 — L.A., L.P. e M.A. do mesmo tamanho. M.P. maiores do que na fig. anterior.

Fig. 5 — M.A. maiores que os L.A. e os L.P.; M.P. bem pequenos e algo mais próximos aos L.P.

Fig. 6 — *A. musculosa* Simon 1892. Desenho semi-esquemático do conjunto bôlsa-espermatecas. Aumento: 15 vêzes. Face dorsal (= superior).

Fig. 7 — Mesmo que Fig. 6. Face ventral (= inferior).

Colorido — Cefalotórax, abdômen e pernas de pubescência negra, densa e veludosa, com variação conforme a idade, e principalmente com as trocas de pele. Após à muda, a pubescência é negra e brilhante, com reflexos esverdeados nas escópulas dos tarsos; com o tempo surgem tonalidades desde cinza a marron escuro, permanecendo o ventre sempre negro; animais, antes da muda, podem apresentar coloração marron pronunciada. Os segmentos das pernas após os fêmures ostentam, às vêzes, coloração cinza, com duas faixas longitudinais negras nítidas em cada segmento. O corpo se reveste de pêlos ruivos, longos e deitados de 5 a 10 mm de comprimento; cefalotórax e pernas com pêlos louro-ruivos ou ruivo-pálidos até ruivos.

Pilosidade das pernas bem mais abundante nas fêmeas. Esterno e ancas das pernas negros, com alguns pêlos ruivo-pálidos; lábio e coxas dos palpos roxos, as últimas com uma franja de pêlos longos côr de braza.

As côres se conservam mal em álcool, ficando a aranha após alguns anos com tonalidade castanho-rósea.

Resumo

É descrita a fêmea de *Acanthoscurria musculosa* Simon, 1892, baseando-se num estudo comparativo de 25 exemplares, vivos e conservados, procedentes de diversas localidades do Estado de Mato Grosso.

Summary

The description of the female of *Acanthoscurria musculosa* Simon, 1892, is based on the comparative study of 25 specimens from Mato Grosso, Brazil.

Agradecimento — Agradeço a Sylvia Lucas e Vera Dessimoni por sua ajuda e estímulo.

Bibliografia

1. *Simon, E. — Ann. Soc. Ent. Fr.* **61**:281-283, 1892.
2. *Simon, E. — Hist. Nat. Ar., Paris* **1**:152 e **2**:941, 1892.
3. *Mello-Leitão, C. de — Rev. Mus. Paulista* **13**:281-302, 1923.
4. *Petrunkevitch, A. — Trans. Connecticut Acad. Sc.* **33**:235, 1939.
5. *Bonnet, P. — Bibliographia Araneorum, Toulouse* **2**:137, 1955.
6. *Buecherl, W. — Ann. Acad. Brasil. Cien.* **29**(3):397, 1957.

CHIRONIUS SCURULUS (WAGLER) RECORDED FROM VENEZUELA

A. R. HOGE

Department of Herpetology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Recently Hoge and Nina (:72) considered *Natrix scurula* Wagler as a valid species belonging to the genus *Chironius*, and recorded several specimens from Brazil and Peru.

A specimen in the "Museo de Biologia de la Universidad Central de Venezuela" extends the range of this species far Northwards and represents the first record from Venezuela.

Description: A specimen without number in the MBUCV; a female, from Rio Paragua between the mouth of Rio Kauni and Raudal Guaiginina, Estado Bolivar, Venezuela, Brewer leg. jan. 13-1962. Rostral larger than high, visible from above; internasals longer than broad; prefrontals as long as broad, as long as the internasals; preocular well visible from above; frontal longer than broad, much broader anteriorly than posteriorly; supraoculars elongated, broadest behind; nine upper labials the fifth and sixth entering the orbit; one pre and two postoculars; temporals 1 + 2, large; loreal longer than high; nasal divided; ten lower labials, the five pairs in contact with the anterior chin-shields; anterior chin-shields as long as posterior ones (the posterior one abnormally elongated, nearly twice as long as his fellow). Ventrals 158; subcaudals 117/117; dorsals in 10-10-10 longitudinal series, all smooth.

Ground color brownish yellow, with irregulary distributed dark brown to black scales in strong color contrast against ground color. Head dark-brown, nearly black. above. Rostral and nasals light brown; upper labials as dark as upper surface of head, except sixth and seventh which are of a slightly lighter color below. Lower jaw yellowish white. The dark dorsum color invades the ventrals; belly strongly marked with dark, underside of tail mottled with dark brown.

Distribution: Peru, Brazil (Amazonian aequatorial forests); Venezuela; from Paragua River (affluent of Orinoco).

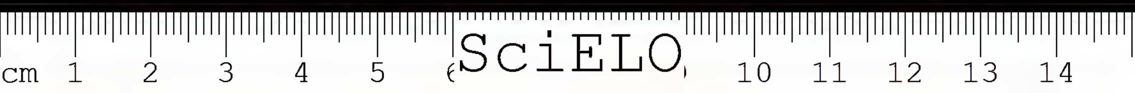
Acknowledgments — We are indebted to Drs.: J. Racenis and H. Solano G., who gave us all the facilities to study the specimens in the MBUCV, Caracas and to Conselho Nacional de Pesquizas do Brazil who supported travel and living expenses in Venezuela.

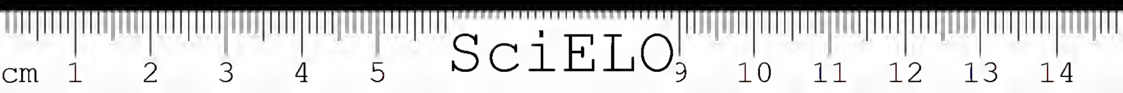
Litterature

Wagler, in Spix — "Serpentum brasiliensium species novae, ou Histoire Naturelle des Espèces Nouvelles de Serpents, recueillies et observées pendant le voyage dans l'interieur du Brésil dans les années 1817, 1818, 1819, 1820, exécuté par ordre de Sa Majesté le Roi de Baviére" 1-4, 1-75, Pl. I-26. Monachii, 1824.

Hoge, A. R. and *Nina, A. C. M.* — Serpentes coletadas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia, *Mem. Inst. Butantan*, **30**:71-96, 1964.

Received for publication in May 8, 1969.




cm 1 2 3 4 5 SciELO 9 10 11 12 13 14

NOTES ON THE HOLOTYPE OF *DIPSAS INDICA CISTICEPS* (BOETTGER) (SERPENTES-DIPSADINAE)

A. R. HOGE

Department of Herpetology, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Generally the specimens of Linnaea Institut, after description, they were sold to several Museums and consequently the actual location of types is sometimes unknown.

From the three new species of snakes described by Boettger (1885) we already had the opportunity to examine: the Holotype of *Rhinaspis Rhodei* = *Simophis rhinostoma* (Schlegel) now in Z.M.H.U. Berlin 10602, and one of the cotypes of *Liophis* (*Lygophis*) *genimaculata* = *Liophis joberti* (Sauvage) now in British Museum of Natural History.

Recently we found a specimen of *Dipsas indica cisticeps* in the collections of Z.I.L. * which although not labelled as Type specimen is without doubt the Holotype of *Dipsas indica cisticeps* (Boettger).

Boettger's description of *cisticeps* was based on a unique specimen from Paraguay, leg. by Linnaea Institut at Frankfurt a/Main, (a commercial organization).

The specimen ZIL 6659, a male, is registered as being from Paraguay, 1885, leg. Linnaea Firma (with an annotation that the Firma Linnaea was a commercial institution that traded specimens).

Comparing the original description with the ZIL specimen it becomes evident that it is the Holotype of *Dipsas indica cisticeps.*

Redescription of holotype: Rostral a little wider than deep (4 x 3,3 mm) not visible from above; internasals half the lenght of prefrontals; frontal slightly longer than wide, shorter than the parietals; nasal semidivided above (the division does not reach the nostril); loreal entering the orbit; two postoculars, equal in height, the upper one slightly longer than the lower; 7th upper labial in contact with unique primary temporal on left side, none on the right side; two first pairs of lower labials in contact behind the symphysial; 4(R.) and 5(L.) Lower labials in contact with anterior chin-shields, chin tubercles present; dorsals in 13/13:13 rows, the vertebral one enlarged; first 11 caudodorsals enlarged.

The dorsal dark blotches are opposed and fused anteriorly and alternating posteriorly, the blotches are chocolate brown with a fine darker brown border; on some places in the dorsal region an external fine white orla can be detected; first blotch with some very thinny white streaks on vertebral line; belly light

* Zoological Institut of Leningrad.
Reeeived for publieation in May 8, 1969.

TABLE I

Characters	Original description	Z.I.L. number 6659
Body length in mm.	432,5	439,0
Tail length in mm	155,0	156,0
Head length in mm.	17,5	17,4
Head width in mm.	11,4	11,5
Praeoculars	2 (equal)	2 (equal in height)
Postoculars	2	2
Temporals	1-2 and 2-3	1-2 (L.) and 1-3 (R.)
Dots in parietals	one in each	one in each
Upper labials	7	7
Lower labials	12-13	12-13
Upper labials in eye	3,4,5 and 4,5	3,4,5 (R.) and 4,5 (L.)
Ventrals	187	186
Anal	1	1
Subcaudals	87/87	87/87
Body blotches	22	22 + ½
Tail blotches	14	13 + ½

The comparison of data on table I shows clearly that the Z.I.L. specimen is the Holotype of *Dipsas indica cisticeps* (Boettger)

brown; the dark color of dorsal blotches invading lightly the ventrals; no white or whitish dots between the bases of dark blotches.

Summary

The Holotype of *Dipsas indica cisticeps* Boettger 1885 is rediscovered in the collections of the Department of Herpetology from the Zoological Institut at Leningrad. A redescription of the rediscovered Holotype is given.

Acknowledgments — We are indebted do Dr. I Darevsky who allowed us free access to all the collections of the Department of Herpetology at the Zoological Institut of Leningrad; to the National Library of Medicine, Grant NLM 00418-01 00418-01 who permitted us the visit to the Zoological Institut of Leningrad.

NOTES ON *PSEUSTES DIEPERINCKII* (SCHLEGEL) *SERPENTES*

A. R. HOGE and S. A. ROMANO

Seeção de Herpetologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

Historical — *Natrix sulfurea* described by Wagler (1824; 26 pl. IX) from a single speeimen eollected on the riverside of Rio Japura, Estado de Amazonas, Brazil.

Dipsias Dieperinekii described by Sehlegel (1837, *1*:163 and *2*:282) from a single speeimen, collected in Surinam.

Fitzinger (1843: 26-27) ereeted the genus: *Thamnobius* with *Coluber poecilostoma* Wied as "species typiea" and *Pseustes* with *Dipsas dieperinckii* as "species typiea".

Duméril, Bibron and Duméril (1854, *7*:221-1050) refered erroneously specimens from Surinam as *Spilotes poeeilostoma.*

Cope (1862:348) described the genus *Phrynonax* with *Tropidodryas lunulatus* Cope as "species typiea".

Boulenger (1894, *2*:18) uses Cope's *Phrynonax* and did not mention *Dipsas dieperinekii* in his Catalogue.

Phrynonax Fauchéri described by Moequard (1903, n.° 5:214) (4) (a single speeimen) from Duteh Guyana sended ot the Paris Museum by Fauehér.

Amaral (1930 (1929) *4*:13), ineludes *Phrynonax fauchérie* in the synonymy of *Phrynonax sulphureus sulphureus* (Wagler) and in an other paper, 1930 (1929) *4*:302, mentions that he eonsiders *dieperinckii* as a probable synonym of *sulphureus,* but that this eannot be proved sinee the type speeimen of *Dieperinekii* was lost.

Brongersma (1937, *20*:5-6, fig. a 2b) proves that the type specimen of *Dipsas dieperinekii* still exists in the Leiden Museum under n.° 384 and considers the speeimen as belonging to *Phrynonax sulphureus sulphureus* as deseribed by Amaral in his revision (1929:306, fig. 5).

Brongersma in the same paper pointed out that the oldest name for the genus is *Thamnobius* Fitzinger. 1843 with *Coluber poeeilostoma* Wied = *Phrynonax sulphureus poecilostoma* "aueto", as "species typica" but is preoeupied by *Thamnobius* Sehoenherr 1836 (fide Sherborn, Index Animalium, S.2,Pl.26,1931:6480) and that the next available generie name is *Pseustes* Fitzinger 1843 which has priority over *Phrynonax* Cope 1862.

Hoge (1964, *30*:61) identifies a specimen of the Surinam Museum, from River Paloemen, Kamp Jeté-té Tumuc-humac Brazilian-Surinam border, as *Pseustes sulphureus sulphureus* (Wagler), he mentions that the speeimen shows some eharacters of *P. fauchéri,* but that the lack of material does not allow a conclusion about the validity of *faueheri.*

During 1967-1968 we were able to examine several specimens from the Guyanas and compare them with the data already available on *P. sulphureus sulphureus* and now consider *P. dieperinekii* as a valid subspecies of *P. sulphureus* with *jauchèri* as synonym.

Pseustes sulphureus dieperinckii (Schlegel)

1837 — *Dipsas Dieperinekii* Schlegel Phys. Scrp. *1*:163 and *2*:283.

1843 — *Pseustes*... type speeies *Dipsas Dieperinekii* Fitzinger. Syst. Rept. (1):27.

1854 — *Spilotes poecilostoma*: Duméril, Bibron et Duméril ("partim" specimens from Guyana) Erpet. gén. 7:221-223.

1894 — *Phrynonax sulphureus;* Boulenger (partim B) Cat. Snak. brit. Mus. *2*:19.

1903 — *Phrynonax Faucheri* nsp. Mocquard, Bull. Mus. Hist. Nat. (5):212 (4).

1930 — (1929) *Phrynonax sulphureus sulphureus*: Amaral, (partim) (consider *jauehéri*) as a synonym of *P. sulphureus sulphureus* Mem. Inst. But. *4*: 13 and *4*:306.

1930 (1929) — (*Dipsas*(*dieperinekii*: Amaral (eonsiders it a probable synonym of *P. s. sulphureus*) Mem. Inst. But. *4*:302.

1937 — *Dipsas dieperinckii* = *Pseustes sulphureus sulphureus* sensu Amaral 1928; Brongersma, Zool. Med. *20*:5, fig. a 2b.

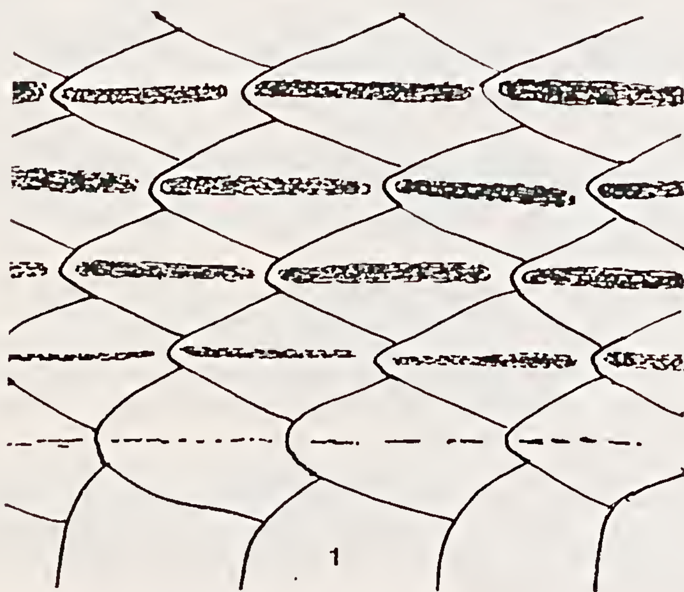
1964 — *Pseustes sulphureus sulphureus;* Hoge — Mem. Instituto Butantan *30*:61.

Type locality. Surinam.

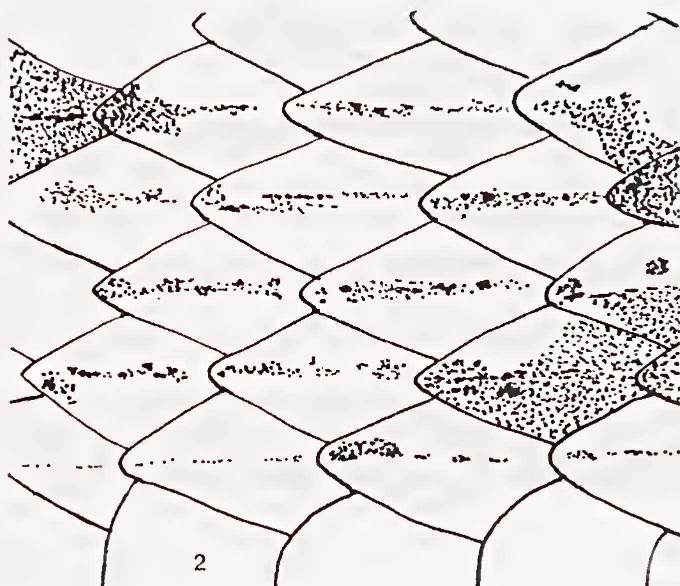
Type RNHL n.° 384.

Range: coastal regions of the Guyanas and NE Venezuela.

Diagnosis: elosest related to *Pseustes sulphureus sulphureus* (Wagler) but distinguishable from it by: the black borders on upper labials; the keels which, although sometimes darker than ground color, never form distinct longitudinal stripes (Fig. 1-2); dark crossbands present in adults, at least on posterior part of



body; tail black. In juveniles and sometimes in adults the nuchal stripes are in contact with the postocular stripe.



2

Material

Pseustes sulphureus dieperinckii: AMNH 8595 Vega Oropouche; AMNH 60753 Kuyuwini river, Brit. Guyana; AMNH 25171 Brit. Guyana; AMNH 60817 Kuyuwini river, Brit Guyana; AMNH 98215 Karlabo, Brit. Guyana; USNM 65575, Caripito, Venezuela. MNHNP., Type of *Fauchèri*, Surinam; S S M. 6 Paloemeu river (final Camp Jeteté, Tummuc Humac, Brazilian- Surinam border line).

Acknowledgments — We are indebted to: Drs. J. Guibé, Alice Grandisson; C. Bogert, J. Peters, Brongersma and Ramon Lancini who allowed us free access to their collections; to the "Conselho Nacional de Pesquizas" which grant permitted us to visit American and European Muscums.

Resumo

Pseustes sulphureus dieperinckii é considerado subspécie válida.

Litterature

Amaral, A. do — Estudos sôbre Ophidios Neotrópicos. XVII. Valor systematico de varias fórmas de Ophidios Neotrópicos. *Mem. Inst. Butantan,* 4:4-68, 1929 (1930).

Amaral, A. do — Estudos sôbre Ophidios Neotrópicos. XX. Revisão do gênero *Phrynonax* Cope, 1862. *Mem. Inst. Butantan,* 4:301-320, Fig. 1-6, 1929.

Boulenger, G. A. — Catalogue of the Snakes in the British Museum (Natural History) 3:1-727, + pl., 1894.

Brongersma, L. D. — Herpetological notes. XV. The Type of *Dipsas Dieperinckii* Schlegel, 1837, and the Genus *Pseustes* Ditzinger, 1843. *Zool. Med. Leiden* **20**:5-10, fig. a e b.

Cope, E. D. — Catalogues of the Reptiles obtained during the Exploration of the Paraná, Paraguay, Vermejo and Uruguay Rivers, by Capt. Thos. J. Page, U.S.N.; and of the Expedition conducting the Survey of the Atrato River, *Proc. Ac. Nat. Sci. Philad.*, pp. 346-359, 1862 (1863).

Duméril, A. M. C., Bibron, G. & Duméril, A. — Erpétologie Générale ou Histoire Naturelle complète des Reptiles, vol. 7, and part. Paris, XII pp. — pp. 781-1536, 1854.

Fitzinger, L., — Systema Reptilium. Fasciculus Primus. Vindobonae, 106 pp. 1843.

Hoge, A. R. — Serpentes da Fundação "Surinaam Museum". *Mem. Inst. Butantan,* **30**:51-64, 1960 (1962).

Mocquard, M. F. — Notes Herpetologiques. *Bull. Mus. d'Hist. Nat.* n.º 5, p. 209, 1903.

Wagler, J. and *Spix, J.* — Serpentum Brasiliensium species novae ou Histoire Naturelle des Espèces Nouvelles de Serpens, Recueillies et Observées Pendant le voyage dans L'Intérieur du Brésil dans les années 1817, 1819, 1820, exécuté par ordre de Sa Majesté Le Roi De Bavière, Monachii, 1824.

A NEW SPECIES OF *CHIRONIUS* (*SERPENTES — COLUBRIDAE*)

A. R. HOGE and S. A. ROMANO

Seção de Herpetologia, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

In 1962 (:54) we identified provisorely as *Chironius multiventris* a specimen from Onverwacht, Surinam.

Since more specimens became available the description of a new species is now possible.

Chironius cochranae n. sp. *

Holotype: U.S.N.M. N.º 1581103, from Agua Preta Utinga (near Belem), State Pará, Brazil, ♂ collected by E. Dente, July 19, 1965.

Diagnosis: A *Chironius* characterized by: dorsals in (12-14)-12-8 rows the two vertebrals, strongly keeled: Ventrals 181-189, caudals 181-203; 9 upper labials (526) the 4th not or nearly not entering the orbit; the dorsal dark color extending to ventrals and caudals all over the body and in strong color contrast; very large and distinct apical pits; no white, black bordered, vertebral streak; ventrals without black edges except on midline suture between caudals; the light colored cross bands, when present, not bordered with dark, and nearly always ill defined.

Relationship: closely allied to *Chironius multiventris* Schmidt 1942 and *Chironius carinatus* (Linnaeus, 1758) but easely distinguished from *C. carinatus* by his higher ventral counts the absence of yellowish dots on paraventral row and different pattern, from *multiventris* by: the absence of vertebral light stripe; absence of black edges on ventrals and caudals, the dark dorsal color invading ventrals and caudals all over the body; the indistinct, never dark edged, light colored crossbands.

Description of *Holotype*: rostral wider than deep, visible from above, internasals as long as wide; prefrontals wider than long, longer than the internasals; frontal (anteriorly) only a little smaller than its lenght, as long as its distance to the end of snout, nearly in contact with preocular; 9 upper labials, the fifth and sixth largely entering the orbit, the 4th scarcely in contact; nasal divided; loreal longer than deep; one pre and two postoculars; temporals 1 + 2; 10 lower labials, 5 first pairs in contact with anterior chin shields, the 5th and 6th much larger than the other ones; anterior chin shields as long as posterior ones; dorsals (12-13)-12-8 smooth, except the two vertebral rows which are strongly keeled, the keels extending on the two vertebral rows of tail till the 8 subcaudal; very distinct apical pits on the two vertebral rows, the pits always on the outer side of keel; ventrals 3 + 181; Anal 1/1: caudals 180/181.

---

* Dedicated to Dr. Doris Cochran curator of Reptiles and Amphibians at the Smithsonian Institution.

Received for publication in May 20, 1969.

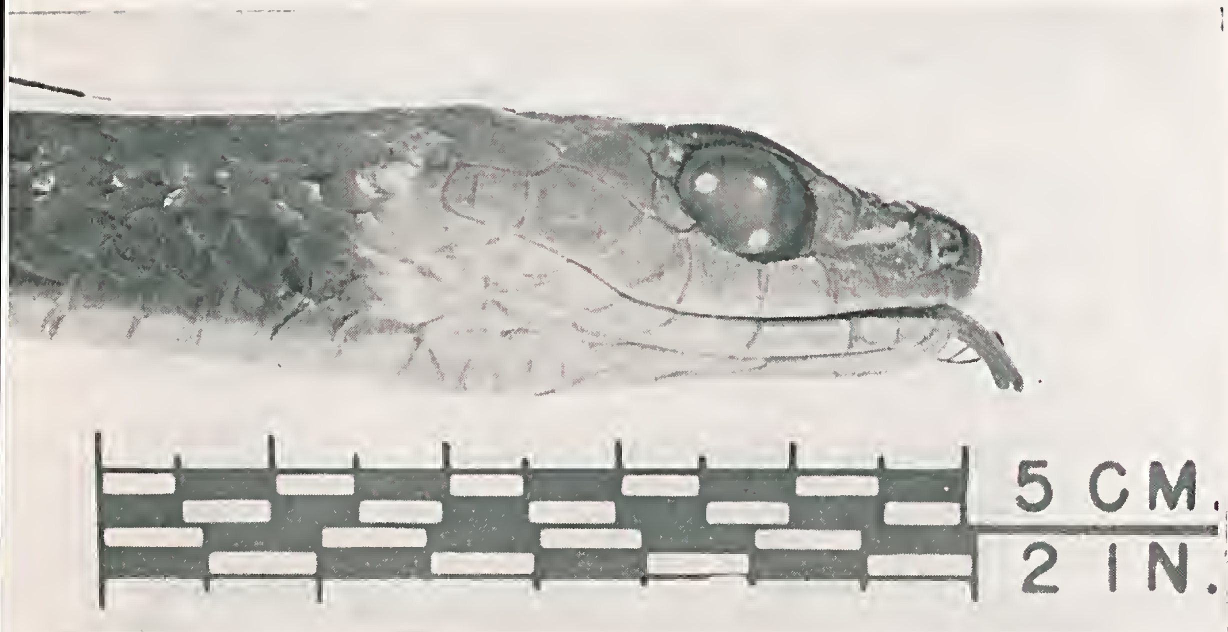


Fig. 1 — *Chironius cochrane* Holotype USNM 158103

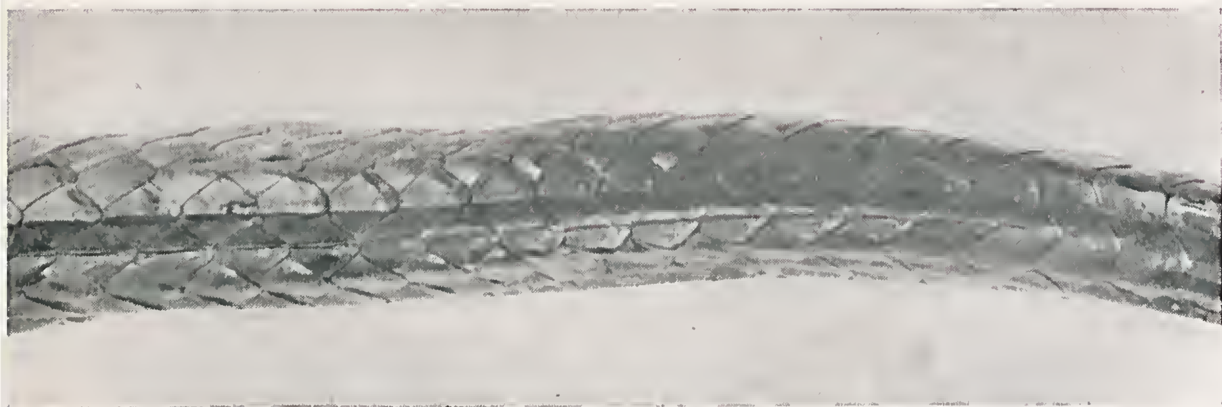


Fig. 2 — Holotype USNM 158103

Ground color brown-olive; the keels of dorsal scales slightly darker than ground color; a series of light, very indistinct crossbands on the posterior part of the body, without black edges and heavily spotted with dark olive-brown; the dorsal ground color extending laterally on the ventrals and caudals.

The head, above of same brown-green ground color, slightly lighter behind the parietals. After some time of preservation the somewhat light regions of occiput anl lateral sides of the head becomes of a very light brown, even white color, giving a peculiar aspect only observed in this species.

Paratypes: IBH 64629 from Moengo, Surinam collected by C. Bonne. SSM. (Surinam, Stichting Museum) N. 10 from Onverwacht, Surinam, collected by Geyskes, April 25, 1954 (This specimen was provisorly indentified as *C. multiventris* (Hoge, 1954).

The paratypes besides scale counts are almost identical in pattern and coloration except that, in some specimens the ground color is much darker on the outer side of ventrals building up a dark lateral stripe from posterior part of body till the end of the tail becoming more distinct on tail.

Another specimen USMM n.° 28947 in bad state, from "Lower Amazon", although not quoted as a paratype is here identified as *C. cochranae*

MMNH 18174, — Kartabo, Brit. Guyana, Berbe — V. 183, T. 1 + 1 (by fusion

MMNH 18174, — Kartabo, Brit. Guyana, Berbe — V. 183, T. 1 + 1 (by fusion of first and 2nd upper temporal, two vertebral strongly keeled in both specimens

AMNH 25030, — V. 187, Kamakusa, Brit. Guyana — caud. 190/190

AMNH 8216, — V. 186, Kalacoon, W. Beebe — G. 183/184

AMNH 8991, — V. 183, Kalacoon, W. Beebe — V. 183, T. 1 + 2, caudals, (inj.)

AMNH 15151, — Kartabo, Brit. Guyana, Beebe — V. 186, G. 199/200 a very faint central gray streak at middle of ventrals,

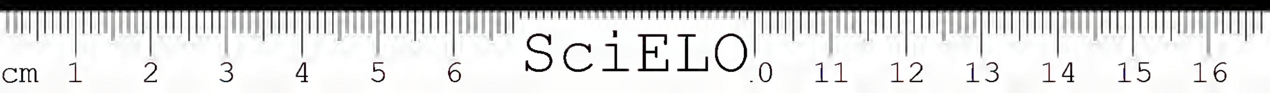
AMNH 6801, — Rochstone — Brit. Guyana, A. Lutz Head only

SSH 10, Onverwacht, Surinan V. 189. G. 203/203.

Acknowledgments — We are indebted to Drs. J. Peters, C. Bogert, J. Guibé and Brongersma, and to the Conselho Nacional de Pesquisas.

Resumo

Descrição de uma sp. n. de *Colubridae; Chironius cochranae* — loc. tipo.. Água Preta, Utinga, próximo a Belém, Pará, Brasil.


SciELO

SISTEMÁTICA DOS *OPISTHOGONIMIDAE* (*TREMATODA, PLAGIORCHIOIDEA*). CRIAÇÃO DA FAMÍLIA BIERIIDAE N.FAM.

PAULO DE TOLEDO ARTIGAS * e MÁRIO DEMAR PEREZ **

Secção de Parasitologia, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil
Departamento de Parasitologia, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, U.S.P., S. Paulo, Brasil

Em 1896, West descreve um trematódeo encontrado nas cavidades bucal e nasal de *Philodryas schotti;* ao parasito em aprêço deu West a denominação de *Distoma philodryadum,* esclarecendo ser o hospedeiro originário do Brasil.

Nesse trabalho, West oferece uma descrição aceitável, além de figuras bem demonstrativas, para o reconhecimento do trematódeo descrito.

Lühe, em 1900, descreve *Opisthogonimus lecithonotus n.g. et n.sp.*, parasito de bôca e intestino de *Coluber* sp., da bôca de *Coluber eririo* e de *Philodryas schotti.* Como no caso de West, os parasitos encontrados por Lühe eram provenientes de ofídios brasileiros. No mesmo ano, Lühe externa a opinião de que *O. lecithonotus* seria sinônimo de *D. philodryadum,* afirmando que o parasito descrito por West deveria passar a ser considerado como *Opisthogonimus philodryadum* (West, 1896); Lühe, 1900. Em nenhum dos seus dois trabalhos publicou Lühe figuras, limitando-se a descrições extensas e bastante pormenorizadas.

Em 1943, Artigas, Ruiz e Leão demonstram que *Distoma philodryadum* e *Opisthogonimus lecithonotus* são espécies distintas e retificam os erros a que tinham sido levados vários autores, confiados nas duas publicações já referidas de Lühe. Entre os autores induzidos a êrro, merece proeminência Pereira que, em 1929, redescreveu *Opisthogonimus philodryadum* (West, 1896). Provaram Artigas, Ruiz e Leão que *O. philodryadum,* no senso de Pereira não corresponde a *Distomum philodryadum* de West; na realidade, *O. philodryadum,* redescrito por Pereira, se ajusta bem ao parasito descrito por Lühe com o nome de *O. lecithonotus.*

Esta afirmativa foi apresentada com bastante segurança, desde que a espécie figurada por West tem o poro genital nìtidamente pré-testicular e pós-acetabular, características anatômicas das espécies do gênero *Westella* Artigas, Ruiz e Leão, 1942. Lühe, quando descreve o *O. lecithonotus,* frisa, na página 556: "Die genitalöffnung liegt median, etwas hinter dem Vorderrande des vorderen Hodens". Portanto, *O. lecithonotus* apresenta uma característica anatômica bem assinalada por Lühe e que, justamente, serviu mais tarde para diferenciar as espécies de *Westella* das espécies de *Opisthogonimus.*

---

* Professor Catedrático da Cadeira de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da U.S.P.

** Professor Assistente Docente da Cadeira de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da U.S.P. e Biologista do Instituto Butantan.

Recebido para publicação em 2 de abril de 1968.

Nossa impressão, fazendo a análise do trabalho de West, é que êste autor teve exemplares de *Opisthogonimus* e de *Westella* no material à sua disposição. Esta dedução se impõe, pela leitura do seguinte trecho de páginas 323-324 da publicação de West: "The genital orifice is situated posterior to the ventral sucker and a little to the left of the median line; its posterior position is not quite constant, being only just posterior to the ventral sucker in some, and in others a considerable distance posterior to it".

Pelo que temos observado, a situação do poro genital é constante numa determinada espécie de *Opisthogonimus,* ou de *Westella,* ou de *Liophistrema.* De outro lado, eventualmente, encontramos mais de uma espécie de trematódeo parasitando o mesmo hospedeiro, sejam espécies do mesmo gênero, ou de gêneros diferentes. Pereira também verificou êste fato biológico. Não obstante, que fique declarado que a norma é encontrar-se uma única espécie e todos os exemplores, via de regra numerosos, apresentam uniformidade no tocante à situação do poro genital.

Nesse trabalho, Pereira, põe em sinonímia *D. philodreyadum* e *D. xenodontis,* espécie descrita por Cordero e Vogelsang, em 1928. Êstes últimos autores referem o encontro de *D. xenodontis* (125 exemplares) no *intestino* da cobra parasitada; e que é verdadeiramente extraordinário, pois que trabalharam com trematódeos parasitos exclusivos da bôca e vias aéreas.

A segunda espécie de *Opisthogonimus* foi encontrada em 1914, por Nicoll que a descreveu com o nome de *Opisthogenes interrogativus n.g. et n.sp.,* sendo o trematódeo parasito de *Philodryas schotti.*

Nicoll criou o gênero *Opisthogenes,* invocando, entre os caracteres diferenciais, a situação testicular do poro genital. A observação de Nicoll foi criteriosa e o nôvo gênero *Opisthogenes* deveria subsistir se não tivesse sido revalidada a espécie de Lühe, *Opisthogonimus lecithonotus.* Entretanto, Travassos, em 1928, ao considerar *Opisthogenes* sinônimo de *Opisthogonimus,* declarou que Nicoll fôra vítima de confusão devida à deficiência na descrição e nas imperfeições das figuras de West.

Nicoll, na realidade, não se confundiu; ao contrário observou muito bem as diferenças entre *Opisthogonimus philodryadum* (no seu trabalho, "lapsus calami", *Opisthogonimus philodryochus* West) e *Opisthogenes interrogativus.* Não fôsse, como já assinalamos, o ensejo de ter sido revalidada a espécie de Lühe, deveríamos considerar *Opisthogenes* um bom gênero, no qual seriam incluídas as atuais espécies de *Opisthogonimus;* em *Opisthogonimus,* a seu turno, teriam que ser incluídas as atuais espécies de *Westella.*

Ruiz e Leão, em 1950, tornam a encontrar e redescrevem *O. lecithonotus,* numa condição anormal, como parasito errático de pâncreas de *Tomodon dorsatus.*

Pereira, em 1928 e 1929, descreve *Opisthogonimus megabothrium* e *Opisthogonimus afranioi* e redescreve *Opisthogonimus philodryadum;* como já dissemos, *O. philodryadum* de Pereira é *O. lecithonotus* de Lühe. Pereira, discípulo de Travassos, seguiu a orientação do mestre e não vislumbrou o verdadeiro mérito da descrição de Lühe e da descrição e figuras de West.

Mais três espécies de *Opisthogonimus* foram descritas em 1942, por Ruiz e Leão; são as seguintes, *O. artigasi, O. fonsecai* e *O. pererai.* Finalmente, em 1943, Ruiz e Leão descreveram *O. fariai.*

Em 1942, Artigas, Ruiz e Leão descrevem, com a denominação de *Westella sulina* um trematódeo muito próximo de *Opisthogonimus* e dos quais se

diferencia principalmente pela conformação de bolsa do cirro e pela posição do poro genital. Em 1943, Artigas, Ruiz e Leão apresentam razões para considerar *Westella* na situação de sub-gênero de *Opisthogonimus*. Em 1956, Teixeira de Freitas, sem discutir o assunto, reconsidera *Westella* como gênero. Na realidade, existem caracteres que diferenciam nìtidamente os dois agrupamentos:

1 — *Opisthogonimus*: Bolsa do cirro muito grande. Poro genital no campo acetabular.

2 — *Westella*: Bolsa do cirro menos desenvolvida. Poro genital na zona ovariana ou pré-ovariana e fora do campo acetabular.

O gênero *Liophistrema* Artigas, Ruiz e Leão, 1942, monotípico, com a espécie tipo *L. pulmonalis* Artigas, Ruiz e Leão possui características suficientes para ser isolado em uma sub-família à parte. Em seus trabalhos, Artigas, Ruiz e Leão propuzeram o nome de LIOPHISTREMINAE, que Teixeira de Freitas modificou, atendendo a normas de etimologia sistemática, para LIOPHISTREMATINAE.

Bieria Leão, 1946 e *B. artigasi* Leão, 1946 são gênero e espécie que se afastam dos opistogonimideos, quer por seu tamanho, relativamente grande, quer pela situação nìtidamente anterior das ventosas e, de um modo geral, pela organologia interna. Teixeira de Freitas, com acêrto, erigiu para o gênero *Bieria* a sub-família BIERIINAE.

Quanto a *Sticolecitha* Prudhoe, 1945 e *S. serpentis* Prudhoe, 1945, devemos dizer que se trata de tipo curioso de trematódeo, com uma gibosidade dorsal onde se alojam os vitelinos. Como *Bieria*, afasta-se morfològicamente dos opistogonimideos, com os quais coparticipa parasitismo da cavidade oral e vias aéreas superiores. Teixeira de Freitas cria para êste parasita a sub-família STICHOLECITHINAE; talvez fôsse mais acertado colocá-lo em família à parte.

MATERIAL E MÉTODO

O presente trabalho é baseado na observação de grande número de exemplares de trematódeos OPISTHOGONIMIDAE, parasitas de ofídios, integrados nas coleções helmintológicas do Instituto Butantan e da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo. O exame do material em aprêço permitiu a revisão do grupo, em particular, das espécies do gênero *Opisthogonimus*, não tratadas em conjunto desde 1929, data da publicação do trabalho de Pereira. Pudemos examinar tôdas as espécies dos gêneros *Opisthogonimus*, *Westella*, *Liophistrema* e *Bieria*, para um estudo geral do grupo que, em 1956, Teixeira de Freitas reuniu em uma nova família, OPISTHOGONIMIDAE. Só não pudemos microscopar *Sticholecitha serpentis*, cujo conhecimento nos foi dado pelo trabalho de Prudhoe e pelas informações de Teixeira de Freitas. A nosso ver, têm oportunidade as apreciações que passamos a enumerar.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Gênero Opisthogonimus Lühe, 1900.

As características morfológicas invocadas pelos vários autores para a definição das espécies de *Opisthogonimus*, são, em geral, satisfatórias. Te-

mos alguma dúvida quanto a *O. afranioi* e *O. fonsecai* e quanto a *O. lecithonotus* e *O. interrogativus*. Nos dois casos, a diferença específica reside no comprimento dos cecos, curtos em *O. afranioi* e *O. interrogativus* atingindo a extremidade posterior em *O. fonsecai* e *O. lecithonotus*. Êste caracter, cecos relativamente curtos ou se prolongando até o extremo do corpo, já utilizado na chave de Pereira, talvez não seja de valor decisivo. Não nos sentimos, entretanto, capacitados para pôr em sinonimia, respectivamente *O. afranioi*, e *O. fonsecai* e *O. interrogativus* e *O. lecithonotus*.

Para a identificação das espécies de *Opisthogonimus* apresentamos a seguinte chave:

1	—	Acetábulo maior que a ventosa oral	*O. megabothrium*
1a	—	Acetábulo e ventosa oral subiguais	2
2	—	Porção proximal da bolsa do cirro dilatada (pelo menos duas vêzes mais grossa que a porção distal)	*O. artigasi*
2a	—	Porção proximal da bolsa do cirro não dilatada	3
3	—	Trematódeos de tamanho médio (9,5 — 12 mm) Vitelinos dispostos em campos distintos	*O. pereirai*
3a	—	Trematódeos de tamanho pequeno (menos de 7,5 mm). Vitelinos irregularmente dispostos e com campos em parte coincidentes	4
4	—	Poro genital pré-testicular, ou situado na zona anterior do testículo anterior	5
4a	—	Poro genital francamente testicular ou pós-testicular ...	6
5	—	Cecos curtos, terminando à certa distância da extremidade posterior	*O. afranioi*
5a	—	Cecos longos, prolongando-se até à extremidade posterior	*O. fonsecai*
6	—	Poro genital testicular	7
6a	—	Poro genital pós-testicular	*O. fariai*
7	—	Cecos curtos, terminando à certa distância da extremidade posterior	*O. interrogativus*
7a	—	Cecos longos, prolongando-se até a extremidade posterior	*O. lecithonotus*

Gênero Westella Artigas, Ruiz e Leão, 1942.

As espécies de *Opisthogonimus* caracterizam-se por terem a bolsa do cirro, em parte, pré-acetabular, ou acetabular, ou pós-acetabular e muito desenvolvida, assumindo frequentemente a forma de C, ou de ponto de interrogação; a porção proximal da bolsa sendo nitidamente dirigida para diante e a distal dirigida para trás. Outra característica é a situação do poro genital, que se abre sempre no campo acetabular. Em *Westella*, a bolsa do cirro, embora desenvolvida, não tem o comprimento observado em *Opisthogonimus;* além de que o poro genital em *Westella* é paramediano, fora do campo acetabular.

Quando descreveram *W. sulina*, Artigas, Ruiz e Leão não tinham conhecimento do trabalho de West, referente a *Distomum philodryadum*. Em 1943, descreveram *W. serpentis*, que se diferencia de *W. sulina* pela morfologia da bolsa do cirro, de menor tamanho, e pela presença de um receptáculo seminal muito volumoso. Êste órgão, também presente em *W. sulina*, é, nesta espécie, muito menor.

Nesse trabalho, Artigas, Ruiz e Leão se reportam à publicação de West e chegam à conclusão de que *D. philodryadum* deve ser colocado no gênero *Westella.* Referem, na publicação em aprêço, a confusão de que foi presa Pereira, quando publicou a revisão do gênero *Opisthogonimus;* reconsideram *O. philodryadum* e afirmam o modo de ver de Lühe, que opinava serem *O. lecithonotus* e *D. philodryadum* uma mesma espécie. Está claro que, se as duas espécies forem diferentes, o nome *lecithonotus* tem que ser mantido e *O. lecithonotus* passa a ser a espécie tipo do gênero. De outro lado, *D. philodryadum,* também revalidado, passa para a nova combinação *Westella philodryadum.*

Aliás, tôda esta argumentação já foi bem elucidada em 1943. Entretanto, faça-se justiça ao trabalho de West; Travassos externou: "Consideramos o gênero *Opisthogenes* Nicoll igual do (*sic*) *Opisthogonimus* Lühe, sendo a confusão de Nicoll devida a deficiência na descrição e imperfeições nas figuras de West"; afirmam Artigas, Ruiz e Leão: "A descrição oferecida por West é deficiente sob vários aspectos e, sobretudo, por não fazer referência aos vitelinos...". Realmente, West poderia ter sido mais preciso na descrição, mas seus desenhos são elucidativos e é clara a situação dos vitelinos na figura do seu *D. philodryadum,* que aparecem em situação dorsal, cecal e extracecal; não têm, pois, procedência as críticas acima referidas.

Estamos com Artigas, Ruiz e Leão, que consideram três espécies de Westella, cuja diferenciação pode ser feita com as características oferecidas na seguinte chave:

1	— Vitelinos cecais e extracecais	*W. philodryadum*
1a	— Vitelinos cecais e intracecais	2
2	— Vesícula seminal relativamente pequena	*W. sulina*
2a	— Vesícula seminal notòriamente volumosa	*W. serpentis*

Seria interessante fazer o estudo comparativo entre *W. philodryadum* e *W. sulina.* São, sem dúvida, espécies muito próximas; no caso da figura de West não representar a realidade, teríamos que considerar *W. sulina* sinônimo de *W. philodryadum.* É de notar, porém, que *W. sulina* é de maiores dimensões; entretanto, a nosso ver, êste caráter, tamanho, não tem valor de primeira ordem, pois variação de tamanho ocorre com freqüência nos trematódeos.

Gênero Liophistrema Artigas, Ruiz e Leão, 1942

A diferenciação essencial invocada pelos autores para a creção dêste gênero e da espécie monogenérica, *L. pulmonalis,* é a situação pré-ovariana do poro genital, que em *Opisthogonimus* é pós-ovariana. Êsse e outros caracteres bem definidos permitiram a ereção da sub-família LIOPHISTREMATINAE (*Liophistreminae* in Artigas, Ruiz e Leão). Teixeira de Freitas oferece, baseado no trabalho daquêles autores, a seguinte diagnose: "Corpo foliáceo, de contôrno elítico. Poro genital imediatamente pós-acetabular, intra-cecal, levemente afastado da linha mediana, pré-ovariano. Bolsa do cirro pequena, pós-acetabular e pré-ovariana, fracamente encurvada, com a porção distal dirigida pra diante. Testículos arredondados, oblíquos, com campos e zonas em contato. Ovário no campo do testículo posterior, levemente adiante do testículo situado mais anteriormente. Vitelinos pós-acetabulares".

A definição proposta por Artigas, Ruiz e Leão para esta sub-família foi a seguinte: "Poro genital de situação pós-acetabular e pré-ovariana, localizado li-

geiramente para fora da linha mediana na espécie tipo do gênero tipo. Bolsa do cirro pequena, pré-ovariana, dirigindo-se do lado do ovário para o do acetábulo. Ovário arredondado, de superfície lisa. Receptáculo seminal presente, testículos ligeiramente piriformes, de superfície lisa, de situação equatorial. Vitelinos dorsais, intracecais, formados de cachos de ácinos volumosos. Vesícula excretora em forma de Y, com o ramo ímpar muito curto".

Dentro da consideração de que os caracteres específicos se impõem para a diferenciação das espécies, que os genéricos são comuns nas espécies do gênero e que os de sub-família são comuns nos gêneros da sub-família, no futuro, caso venham a ser descritas novas espécies de LIOPHISTREMATINAE, qualquer uma das duas diagnoses deverá ser modificada.

Gêneros Bieria Leão, 1946 e Sticholecitha *Prudhoe, 1945.*

Nossa maneira de ver diverge da de Teixeira de Freitas, que criou para êsses dois gêneros, duas sub-famílias monogenéricas, subordinando-as à família OPISTHOGONIMIDAE Teixeira de Freitas, 1956. Por isso, propomos uma alteração na sistematização proposta por aquêle autor para os trematódeos parasitos do aparelho respiratório e primeiras porções do aparelho digestivo dos ofídios, até o presente exclusivamente sul-americanos. É o que passamos a discutir.

Teixeira de Freitas reuniu em uma família, OPISTHOGONIMIDAE Teixeira de Freitas, 1956, as sub-famílias OPISTHOGONIMINAE Travassos, LIOPHISTREMATINAE Artigas, Ruiz e Leão, 1928, BIERIINAE Teixeira de Freitas, 1956 e STICHOLECITHINAE Teixeira de Freitas, 1956.

Quanto às afinidades de OPISTHOGONIMINAE e LIOPHISTREMATINAE, elas são indiscutíveis. As duas outras sub-famílias se afastam das citadas; em BIERIINAE e STICHOLECITHINAE, temos trematódeos que se separam pela posição do poro genital pré-acetabular e bolsa do cirro também pré-acetabular. A conformação da bolsa do cirro, em *B. artigasi* e *S. serpentis,* também diverge decididamente do que se observa nas espécies de *Opisthogonimus.* Se separamos *Liophistrema* de *Opisthogonimus* sem esfôrço, pela reduzida dimensão relativa da bolsa do cirro, devemos convir que a conformação geral orgânica do trematódeo obedece ao plano anatômico dos *Opisthogonimus.* Evidentemente, não é o que acontece com *B. artigasi* e *S. serpentis,* com relação aos gêneros de OPISTHOGONIMINAE e LIOPHISTREMATINAE. Daí a nossa divergência quanto ao plano sistemático de Teixeira de Freitas. Opinamos que BIERIINAE e STICHOLECITHINAE devem ser separadas em uma família à parte, para a qual propomos o nome de BIERIIDAE n.fam., com a seguinte definição:

BIERIIDAE n.fam.

PLAGIORCHOIDEA. Trematódeos de corpo alongado, com a parte anterior ligeiramente mais larga que a posterior. Eventualmente, com gibosidade dorsal, no sentido longitudinal. Ventosa oral sub-terminal. Acetábulo de situação nìtidamente pré-equatorial. Aberturas genitais masculina e feminina contíguas. Poro genital pré-acetabular, extracecal, marginal ou sub-marginal. Bolsa do cirro, embora desenvolvida, relativamente pequena e de situação pré-acetabular. Testículos pós-ovarianos, com zonas coincidentes ou parcialmente coincidentes e campos distintos. Ovário pós-acetabular, pré-testicular e intracecal, seu campo coincidindo com o testicular. Vesícula seminal presente, paraovariana. Vitelinos pós-acetabulares, ou parcialmente pré-acetabulares. Poro excretor terminal. Vesícula seminal em Y. Parasitos da bôca, vias respiratórias e esôfago de ofídios.

Sub-família tipo: BIERIINAE Teixeira de Freitas, 1956.

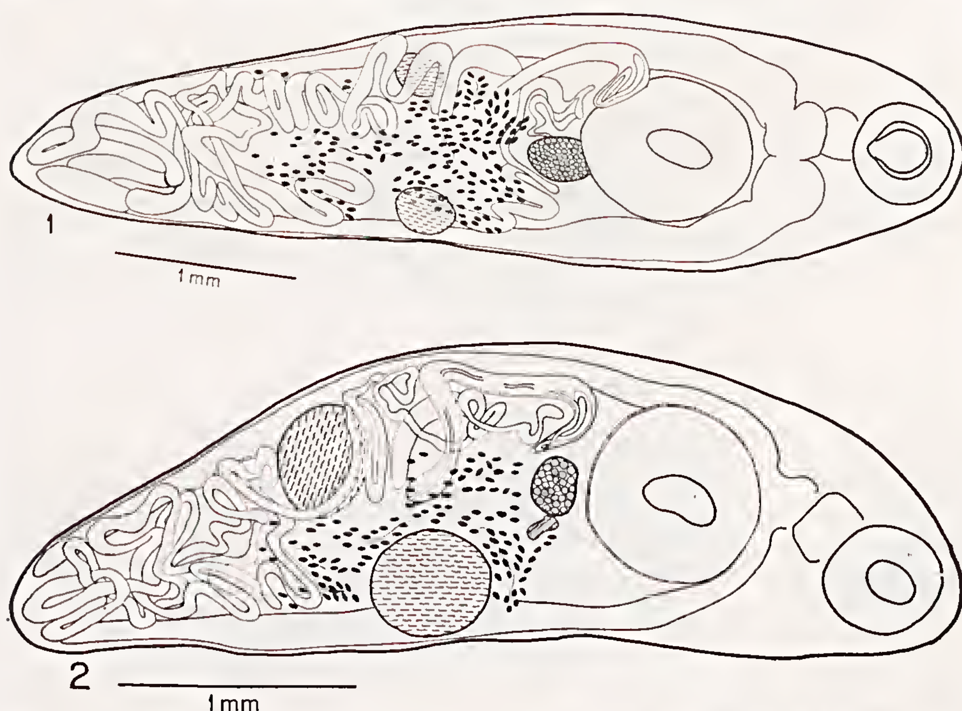
Outra sub-família: STICHOLECITHINAE Teixeira de Freitas, 1956.

Com a proposição da família BIERIIDAE, a diagnose da família OPISTHOGONIMIDAE Teixeira de Freitas, 1956, deverá ter a seguinte enunciação:

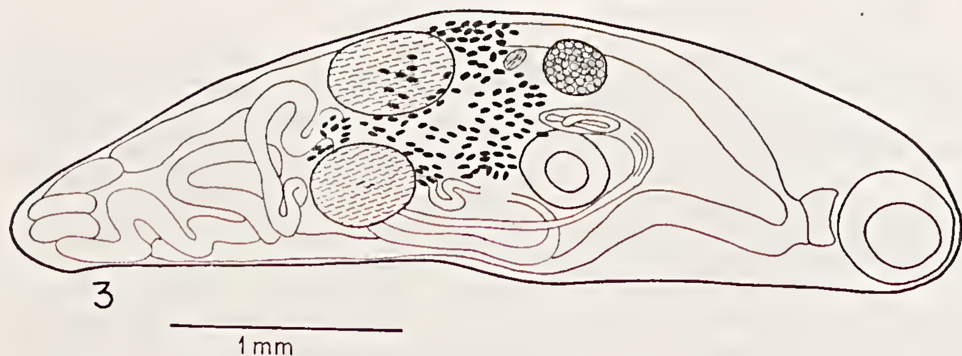
PLAGIORCHOIDEA. Trematódeos com o corpo tendendo para a forma elíptica, relativamente pouco alongados, com a porção anterior mais larga que a posterior. Ventosa oral sub-terminal. Acetábulo situado no têrço médio do corpo. Aberturas genitais masculina e feminina contíguas, de situação pós-acetabular, intracecal, ou paramediana, nas zonas pré-ovariana, ovariana ou pós-ovariana, ou testicular. Bolsa do cirro em geral, muito desenvolvida, eventualmente com menor desenvolvimento, de situação acetabular ou pós-acetabular, ou pré-acetabular. Testículos pós-ovarianos, com zonas em parte coincidentes e campos afastados ou não. Ovário pós-acetabular, eventualmente na zona acetabular. Vesícula seminal presente, paraovariana. Vitelinos essencialmente pós-acetabulares. Poro excretor terminal. Vesícula excretora em Y. Parasitos do esôfago e vias respiratórias de ofídios.

RESUMO

No presente trabalho é feita uma revisão do gênero *Opisthogonimus* Lühe, 1900, com a apresentação de dados relativos à diferenciação das suas várias espécies; o mesmo é feito com relação aos gêneros *Westella*, *Liophistrema*, *Bieria* e *Sticholecitha*. Levando em conta o trabalho de Teixeira de Freitas, são sugeridas a alteração do *status* proposto por êsse pesquisador para a família *Ophistogonemidae* e a criação de nova família, *Bieriidae*.

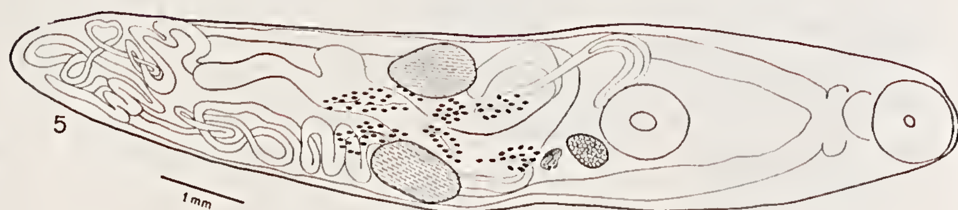


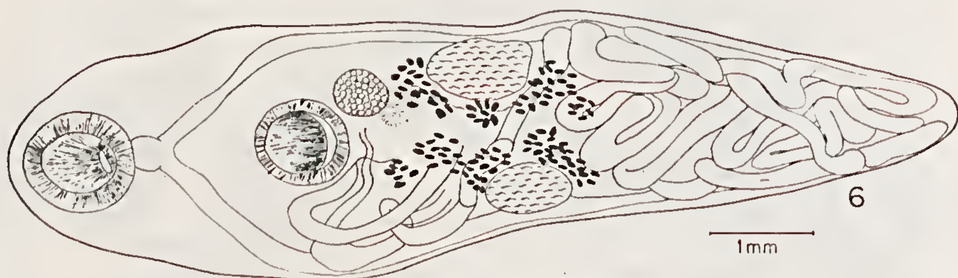
Figs. 1 e 2 — *Opisthogonimus megabothrium* Pereira, 1928. Exemplares dos lotes 5556 e 5522 — Original.



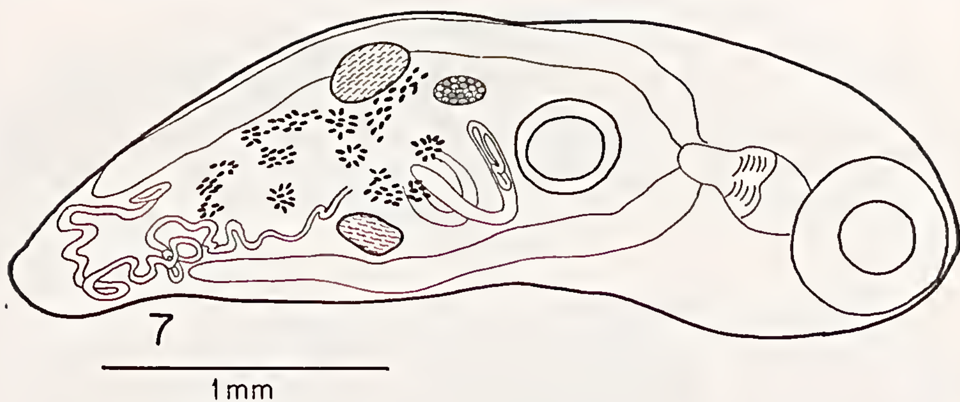


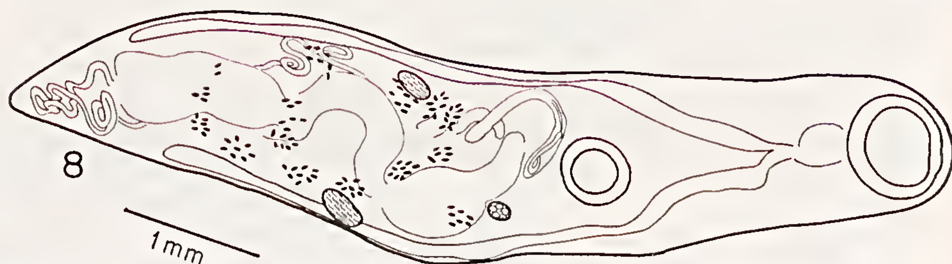
Figs. 3 e 4 — *Opisthogonimus artigasi* Ruiz e Leão, 1942. Exemplares dos lotes 3709 e 5130 — Original.



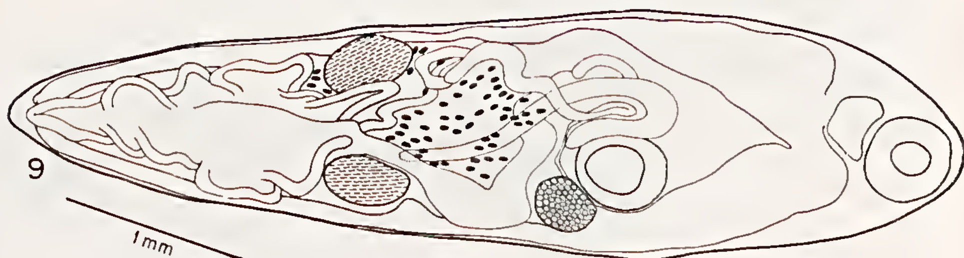


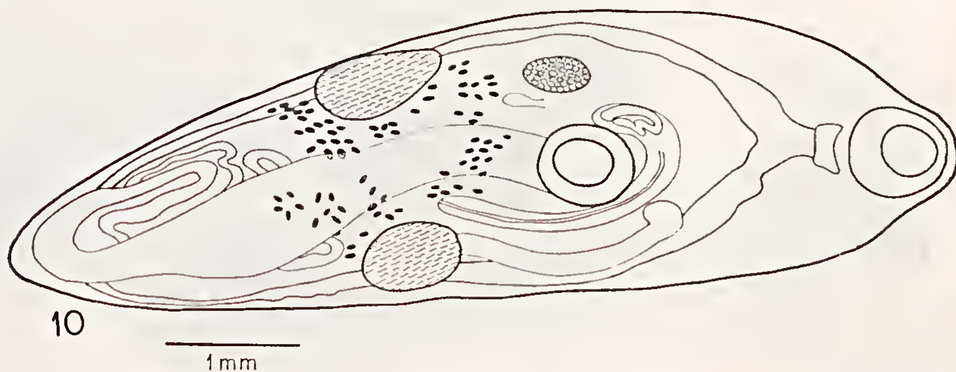
Figs. 5 e 6 — *Opisthogonimus pererai* Ruiz e Leão, 1942. Exemplares dos lotes 5590 e 5151, cootipo — Original.





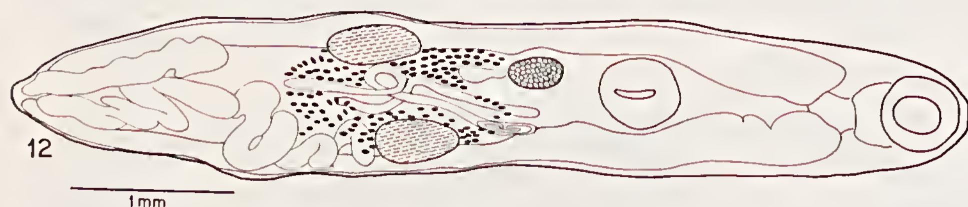
Figs. 7 e 8 — *Opisthogonimus afranioi* Pereira, 1929. Exemplares do lote 3606 — Original.



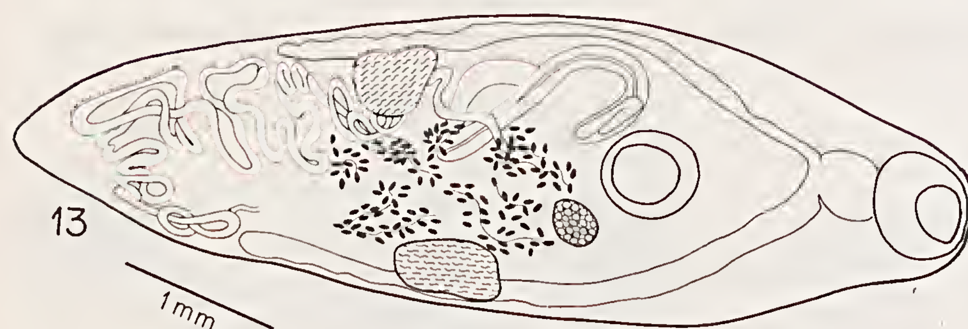


Figs. 9 e 10 — *Opisthogonimus fonsecai* Ruiz e Leão, 1942. Exemplares dos lotes 5317 e 5496 — Original.



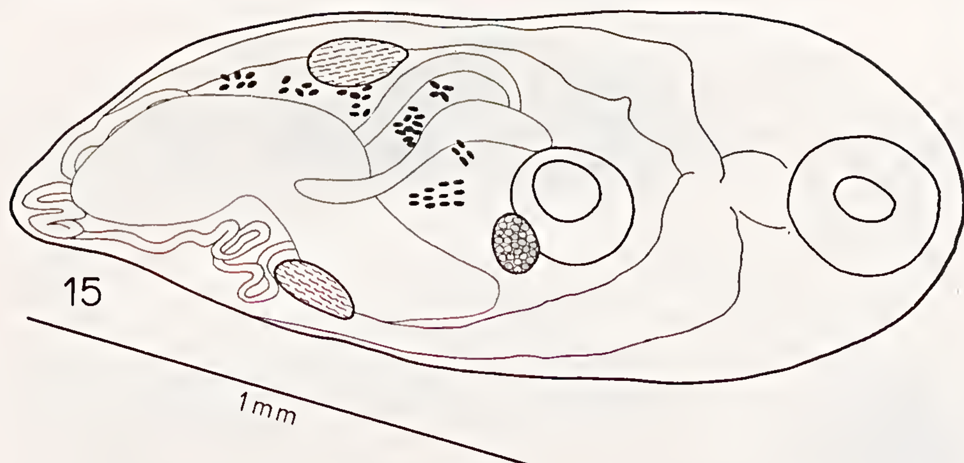


Figs. 11 e 12 — *Opisthogonimus fariai* Ruiz e Leão, 1943. Exemplares dos lotes 5562 e 5561 — Original.





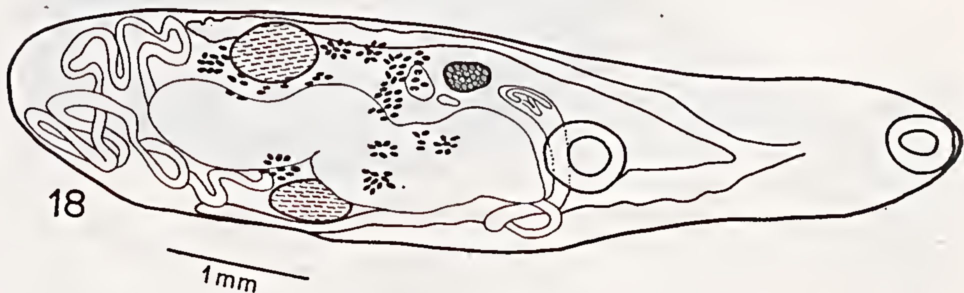
Figs. 13 e 14 — *Opisthogonimus interrogativus* (Nicoll, 1914). Exemplares dos lotes 3637 e 5371 — Original.



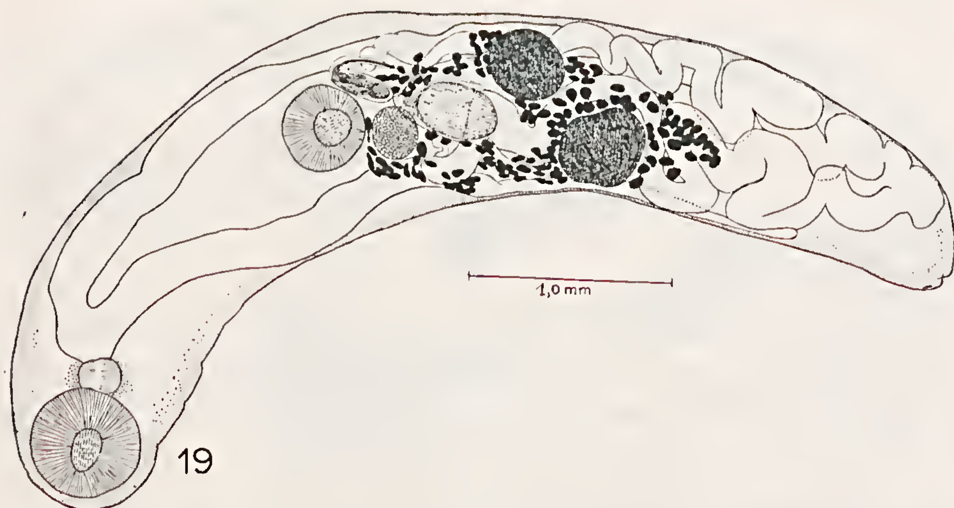


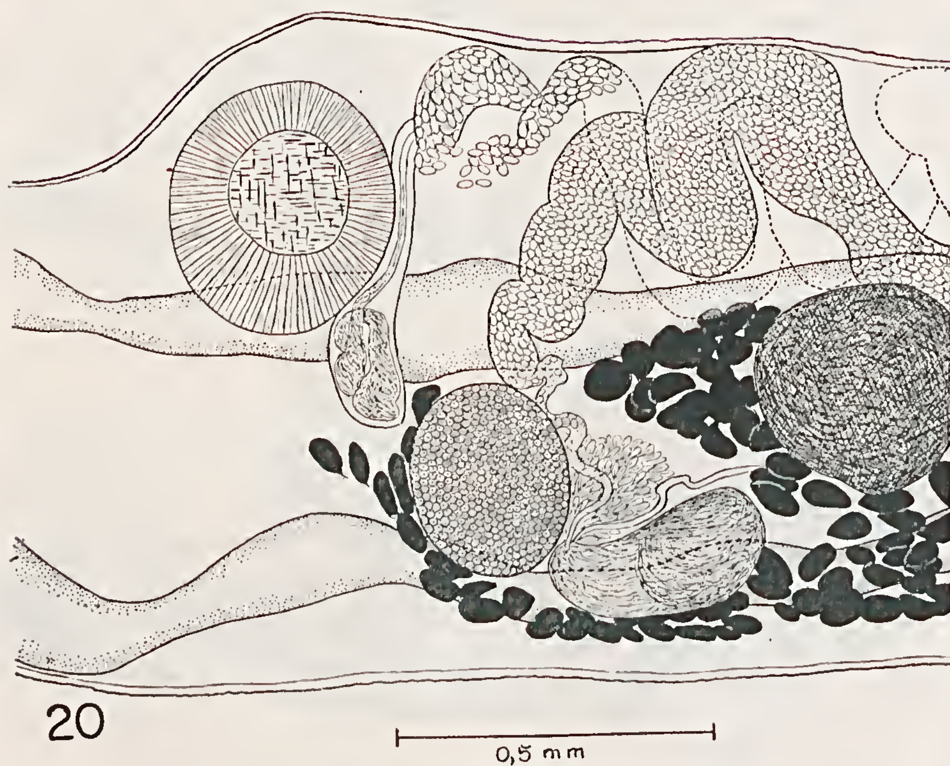
Figs. 15 e 16 — *Opisthogonimus lecithonotus* Lühe, 1900. Exemplares dos lotes 5495 e 3612 — Original.





Figs. 17 e 18 — *Westella sulina* Artigas, Ruiz e Leão, 1942. Exemplares do lote 5316 — Original.





Figs. 19 e 20 — *Westella serpentis* Artigas, Ruiz e Leão, 1943. Original de Artigas, Ruiz e Leão, 1943.



Figs. 21 e 22 — *Liophistrema pulmonalis* Artigas, Ruiz e Leão, 1942. Exemplares do lote 2444, cootipo — Original.



Fig. 23 — *Bieria artigasi* Leão, 1946. *In* Leão, 1946.

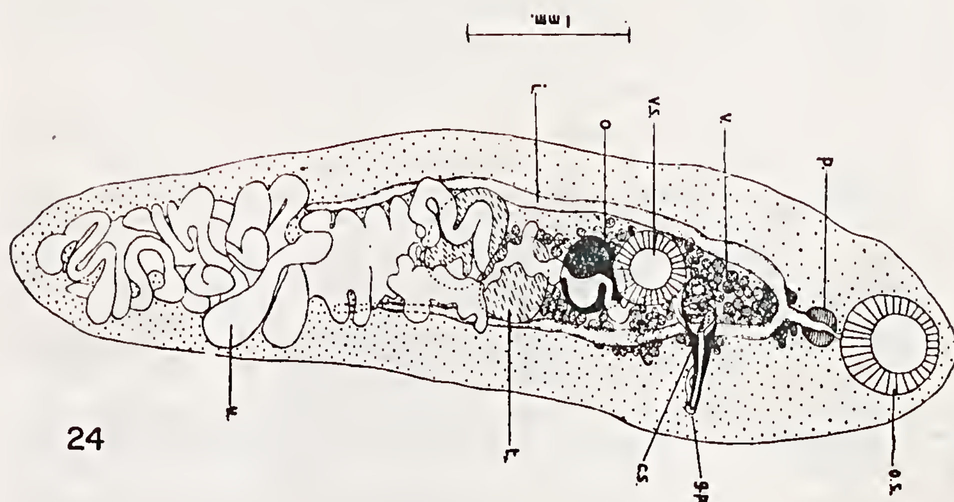


Fig. — 24 — *Sticholecitha serpentis* Prudhoe, 1949. *In* Prudhoe, 1949.

Summary

The present work deals with the genus OPISTHOGONIMUS, adding some considerations to their various species; the same proceeding is applied to the genus WESTELLA, LIOPHISTREMA, BIERIA and STICHOLECITHA. Concerning to the work of Teixeira de Freitas, a change of the status of the OPISTHOGONIMIDAE family is proposed and a new family, BIERIIDAE, suggested.

AGRADECIMENTO — Agradecemos a colaboração do Sr. Flávio Sarti, do Instituto Butantan, que conosco compartilhou o acabamento dos desenhos originais.

Bibliografia

1. *Artigas, P. T., Ruiz, J. M.* e *Leão, A. T.* — 1942 — "Trematoides de ofídios. *Liophistrema pulmonalis* n.g., n. sp., LIOPHISTREMINAE n. subfam., *Westella sulina* n.g., n.sp., (PLAGIORCHIIDAE)". *Mem. Inst. Butantan,* **16**:157-169, 5 figs.

2. *Artigas, P. T., Ruiz, J. M.* e *Leão, A. T.* — 1943 — "Algumas notas sôbre o gênero *Opisthogonimus*. Lühe, 1900. Descrição de *Opisthogonimus serpentis, sp.n.,* trematóide de ofídio". *Mem. Inst. Butantan,* **17**:47-59, 4 figs.

3. *Cordero, E., Vogelsang, H. G.* — 1928 — "*Distomus xenodontis* n.sp. Nuevo trematode del intestino de *Xenodon merremi* (Wagler) de Jujuij". *Cuarta Reun. Soc. Arg. Pat. Reg.* Norte, pp. 636-641, 2 figs.

4. *Leão, A. T.* e *Ruiz, J. M.* — 1942-1943 — "Notas helmintológicas. 7. *Opisthogonimus fariai* n.sp. (*Trematoda. Opisthogoniminae*)". *An. Fac. Farm. Odont. da U.S.P.,* 3:96-104, 6 figs.

5. *Leão, A. T.* — 1946 — "Sôbre um nôvo gênero de *Liophistrematinae* Artigas, Ruiz e Leão, 1942 (*Trematoda, Plagiorchiidae*)". *Mem. Inst. Butantan,* **19**: 33-40, 3 figs.

6. *Lühe, M.* — 1900 — "Über einige *Distomum* ans Schlangen und Eidechsen". *Centralbl. Bakt.,* abt. 1, **28**:555-556.

7. *Lühe, M.* — 1900 — "Über *Distomum philodryadum* West." *Centralbl. Bakt.,* abt. 1, **28**:743.

8. *Nicoll, W.* — 1914 — "Trematodes parasites from animals dying in the Zoological Society's Garden during, 1911-1912". *Proc. Zool. Soc.* **1**:139-154, pfs. 1-4, 11 figs.

9. *Pereira, C.* — 1928 — "Fauna helmintológica dos ofídios brasileiros (3.º). *Bol. Biol.,* **12**:50-54, 8 figs.

10. *Pereira, C.* — 1929 — "Revisão do gênero *Opisthogonimus*". *Rev. Mus. Paul.,* **16**:995-1009, 19 figs.

11. *Prudhoe, S.* — 1949 — "Some roundworms and flatworms from the West Indies and Surinam. III. Trematodes". *J. Linn. Zool.,* **41**:415-419, 2 figs.

12. *Ruiz, J. M.* e *Leão, A. T.* — 1942 — "Notas helmintológicas. 1. Sôbre dois casos de parasitismo errático verificado no gênero *Opisthogonimus* (*Trematoda. Plagiorchiidae*). *An. Fac. Farm. Odont. U.S.P.,* **8**:99-103, 6 figs.

13. *Ruiz, J. M.* e *Leão, A. T.* — 1942 — "Notas helmintológicas. Três novas espécies de *Opisthogonimus* parasitas de ofídios brasileiros (*Trematoda. Plagiorchiidae*)". *Mem. Inst. Butantan,* **16**:171-185, 5 figs.

14. *Teixeira de Freitas, J. F.* — 1956 — "Breve nota sôbre *"Opisthogoniminae"* Travassos, 1928 e grupos afins (*Trematoda. Plagiorchoidea*)". *Rev. Bras. Biol.* **16**:141-144.

15. *Travassos, L.* — 1928 — "Fauna helmintológica de Mato Grosso (*Trematoda,* I Parte)". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* **21**:309-341, ests. 42-54, 44 figs.

16. *West, G. S.* — 1896 — "On a new species of *Distomum*". *J. Linn. Soc.,* **25**: 322-324, pl. 11, 10 figs.

MYXOMATOSE EXPERIMENTAL EM ORYCTOLAGUS SP. E SYLVILAGUS SP.

A. VALLEJO-FREIRE, B. OLIVEIRA FILHO e A. BRUNNER Jr.

Secção de Virus, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

A myxomatose, infecção grave, específica dos coelhos, foi reconhecida numa epizootia em laboratório, no Uruguai e descrita pela primeira vez por Sanarelli (1) em 1898. Epizootias ocorrem nas Américas do Sul, Central e Oeste da América do Norte.

Sanarelli reproduziu experimentalmente a doença e estudou os tumores subcutâneos característicos, afirmando serem êles devidos a proliferação de células de formas dendríticas que denominou "células myxomatosas". Incluiu a myxomatose entre as doenças causadas por virus, em virtude de ter mostrado sua natureza infecciosa, não encontrando formas bacterianas nas preparações feitas com aquêle material; denominou o agente infectante de "vírus myxomatogênico". É um vírus classificado entre os do grupo pox (2), embora se comporte quanto a algumas propriedades adotadas como critérios taxonômicos, de modo diverso em relação aos demais componentes do grupo.

Splendore (3) descreveu inclusões em tecido tumoral corado pelo Giemsa e comparou-as com os corpos de inclusão descritos por Halberstaedter e Prowazek nas lesões tracomatosas. Moses (4) não confirmou a presença de inclusões citoplasmáticas, mas demonstrou que o agente infectante atravessa as velas esterilizantes Berkefeld, comprovando, assim, tratar-se de um vírus filtrável. Aragão (5) também não evidenciou corpos de inclusão no citoplasma, mas descreveu inclusões intranucleares, reconhecendo, posteriormente, tratar-se de acúmulos de cromatina (6). Torres e Almeida Cardoso (7) descreveram inclusões intranucleares em células não caracterizadas admitindo, porém, a possibilidade de contaminação dos animais por um vírus intranuclear.

Foi Aragão (5) quem primeiramente reconheceu partículas intracitoplasmáticas, identificando-as como sendo o vírus do myxoma, muito semelhante ao vírus da varíola e do molluscum contagiosum. Lipschütz (8) e Findlay (9) constataram também a presença de corpúsculos no citoplasma das células myxomatosas, às vêzes agrupados, formando massas mais ou menos extensas.

O tecido tumoral subcutâneo, é de natureza edematosa, não proliferativa, segundo Findlay (9). Rivers (10), todavia, observou um processo proliferativo, seguido da destruição dos elementos celulares.

Alterações no epitélio foram descritas por Rivers (11), com ocorrência de hipertrofia das células seguida da formação de uma inclusão eosinófila que pode ocupar grande parte do citoplasma. Verificou também inclusões azurófilas e, concomitantemente, uma rarefação do núcleo, disposto excêntricamente.

Recebido para publicação em 2 de fevereiro de 1968.

Além de partículas azurófilas intracitoplasmáticas, foram descritos também corpos esféricos basófilos, de 2 a 3 μ de diâmetro, que por vêzes davam reação positiva ao Feulgen (12).

Van Rooyen e Rhodes (13) observaram pelo método de Paschen, corpúsculos elementares em sedimentos obtidos por centrifugações da suspensão do material colhido de lavagens da conjuntiva de coelhos infectados; as primeiras eletromicrografias do virus parcialmente purificado foram obtidas por Borries e col. (14).

Êste trabalho tem por objetivo mostrar aspectos decorrentes da infecção pelo vírus do myxoma em coelhos domésticos e silvestres nos tecidos epitelial e conjuntivo da pele.

Material e Métodos

Inóculo — A amostra do vírus do myxoma foi fornecida pelo Dr. Paulo Mello Freire, do Instituto Biológico de São Paulo, isolada em 1954 de coelho doméstico (*Oryctolagus*), em Itaquaquecetuba. Foram feitas duas passagens em coelho e os tumores mantidos a -20°C, em glicerina a 50%.

Os tumores cutâneos eram triturados com areia e as partículas suspensas em salina com tampão fosfato de pH 7,2 — 7,4. As inoculações eram feitas por via intradérmica ou subcutânea, com 0,1 a 1,0 ml da suspensão. Diàriamente, em dois período, eram verificadas as temperaturas dos animais (Oryctolagus sp e Sylvilagus sp.).

O coelho doméstico apresentava febre no 2.° ou 3.° dia após a inoculação, que regredia no 7.° ou 8.° dia e a morte sobrevinha geralmente no 10.° dia apresentando o animal todos os sintomas característicos da doença.

As biópsias dos tumores cutâneos, eram feitas de 3 a 10 dias e a pele do local da inoculação, de 4 a 24 horas após a infecção.

O coelho silvestre apresentava temperaturas variáveis e o animal se recuperava em tôrno de 60 dias. O material era colhido de 7 a 48 dias após a inoculação.

Microscopia Eletrônica — Fragmentos de pele, de 1-2 mm^3 aproximadamente, foram fixados em ácido ósmico a 1% em tampão veronal-acetato, isotônico, de pH 7,4 ou em subtosan, durante 1-2 horas, desidratados na série alcoólica e incluidos em metil-butil metacrilatos misturados na proporção de 3:7, contendo 1% de peróxido de benzoila. A polimerização se processou a 54°C, durante 12 a 24 horas.

O sangue foi colhido da veia marginal da orelha, no 3.° ou 5.° dia e no período agônico, fixando-se e incluindo 2 ou 3 gôtas nas mesmas condições que os fragmentos de tecido, por centrifugações e decantações sucessivas.

Os cortes foram obtidos num micrótomo Porter-Blum e fotografados no microscópio Siemens UM100b com aumentos de x1300 a x15000.

Resultados e Conclusões

Sylvilagus — Nos coelhos silvestres observamos uma tumoração apenas no local da inoculação do vírus, ocorrendo uma recuperação dos animais ao redor de 60 dias, os quais adquiriram inclusive imunidade. Quanto ao aspecto ultramicroscópico do epitélio, podem-se salientar as alterações que ocorrem no tecido, devidos à intensa infestação pelo vírus, como se observa na fig. 1. É uma região próxima à camada basal, em que as células se apresentam com distribuição e contornos irregulares. Os

núcleos, excêntricos e também irregulares, apresentam com freqüência uma rarefação possìvelmente correlacionada com o processo de desenvolvimento dos corpúsculos elementares no citoplasma. Nos núcleos e no citoplasma observam-se membranas cujas secções, aproximadamente circulares, envolvem material de menor ou igual densidade que a zona circunvizinha. Há poucos desmosomas, estando as células, em extensas regiões, apenas apostas umas às outras. A fig. 2 corresponde a uma célula epitelial, com o citoplasma totalmente ocupado por partículas de vírus. Há regiões pouco densas aos eletrons, limitadas por membranas simples ou múltiplas, de contornos irregulares. Observa-se, aproximadamente no centro do citoplasma, uma região granular, homogêneamente densa, já descrita em outras infecções por vírus do grupo pox, como o vacínico (15, 16, 17, 18, 19) e o molluscum contagiosum (20). No centro dessa região granular há uma massa compacta e densa de aproximadamente 1200 x 400 mμ. Não se observam mitocôndrias e retículo endoplasmático, que estão presentes nas fases iniciais do desenvolvimento do vírus, diminuindo aquêles em número e êste em extensão, até o total desaparecimento, à medida em que aumenta o número de partículas, o que pode ser considerado como uma conseqüência da infecção. O núcleo, alongado e excêntrico, apresenta uma rarefação contendo no seu limite uma formação elíptica, densa aos electrons. Junto à membrana há duas vesículas, contendo uma delas uma partícula da mesma densidade e dimensões que as de un corpúsculo elementar. Êste aspecto pode corresponder a uma invaginação nuclear coincidente com a presença de uma partícula naquela região do citoplasma.

Algumas células apresentam, além de partículas livres, aglomerados de corpúsculos, bem delimitados, semelhantes aos corpos de Bollinger da varíola aviária, quanto a densidade e compacticidade, descritos por Eaves e Flewet (21). Uma das células da fig. 3 contém duas inclusões dêsse tipo. A maior contém regiões mais ou menos circulares pouco densas, em cujos limites se dispõem aglomerados de partículas de vírus.

Na fig. 4 observa-se uma formação de secção circular, constituida na sua periferia por uma massa granular, densa aos eletrons. A maior parte dessa formação é constituida por regiões circulares pouco densas, delimitadas umas com as outras por finos cordões de citoplasma nos quais se dispõem as partículas. É, possìvelmente, o citoplasma de outra célula, invaginado numa célula não infectada.

Numa fase, ao que se supõe, mais adiantada do parasitismo, o citoplasma se desintegra apresentando apenas vesículas em cujos limites se observam os corpúsculos elementares (fig. 5). É interessante observar que em algumas regiões do epitélio, as células apresentam diferentes graus de intensidade de parasitismo, havendo mesmo algumas, apostas a células de aspectos semelhante à da fig. 5, cujas secções não apresentam partículas.

Com a regressão do tumor, o epitélio sofre descamação, seguida da completa destruição do tecido. As células se desintegram e as partículas de vírus são liberadas (fig. 6), o que pode explicar, em parte, a disseminação do vírus no campo e a consequente aquisição de imunidade pelos coelhos silvestres. O epitélio se regenera, a partir da camada basal, tomando as características normais do tecido.

As partículas aparentemente livres das estruturas citoplasmáticas apresentam-se menos densas na região central, com secção circular, enquanto que as incluidas no citoplasma, ou mesmo no tecido já desintegrado, porém, próximas a vestígios de estrutura celular, apresentam secção elíptica e são mais densas aos eletrons.

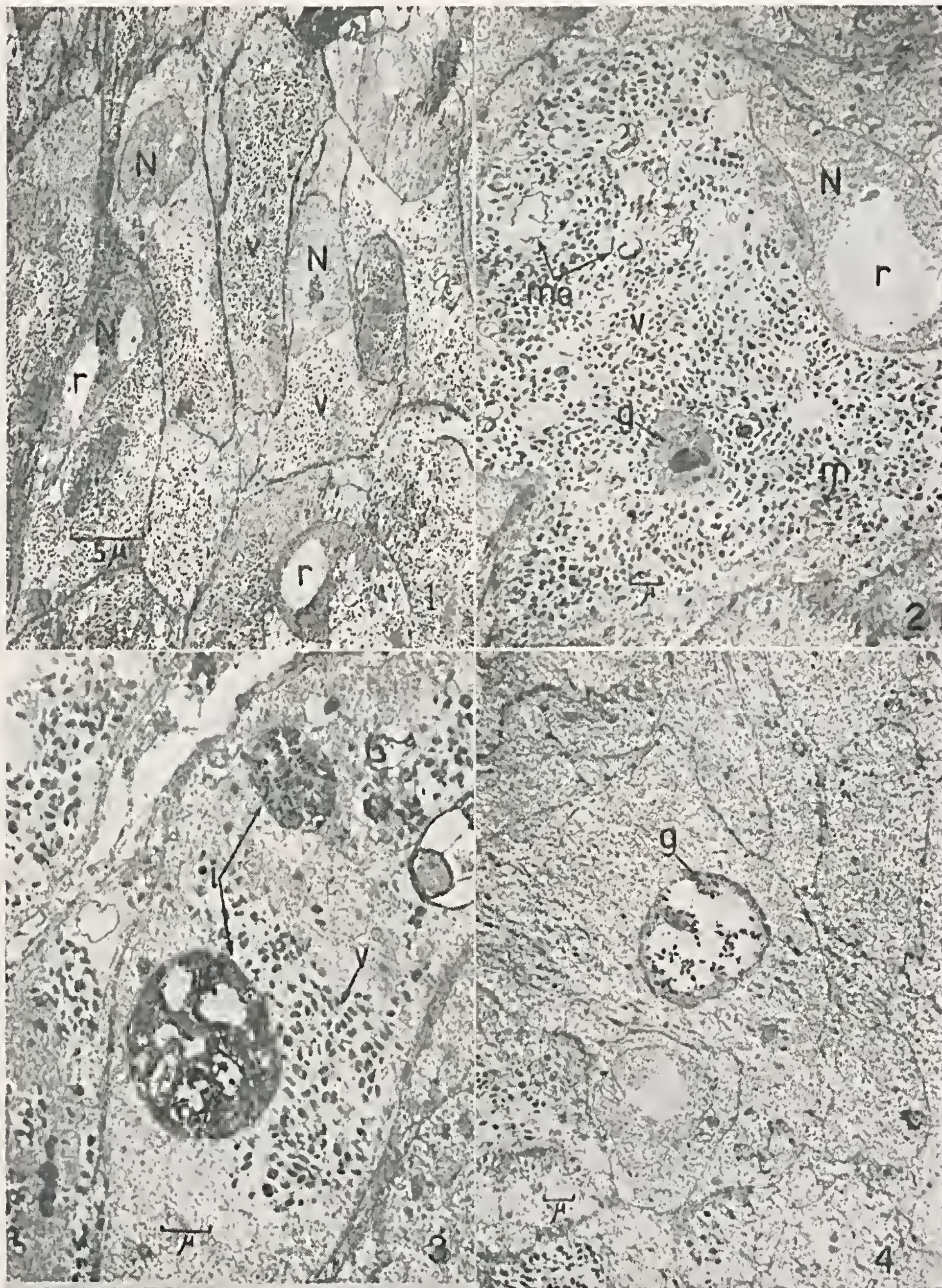
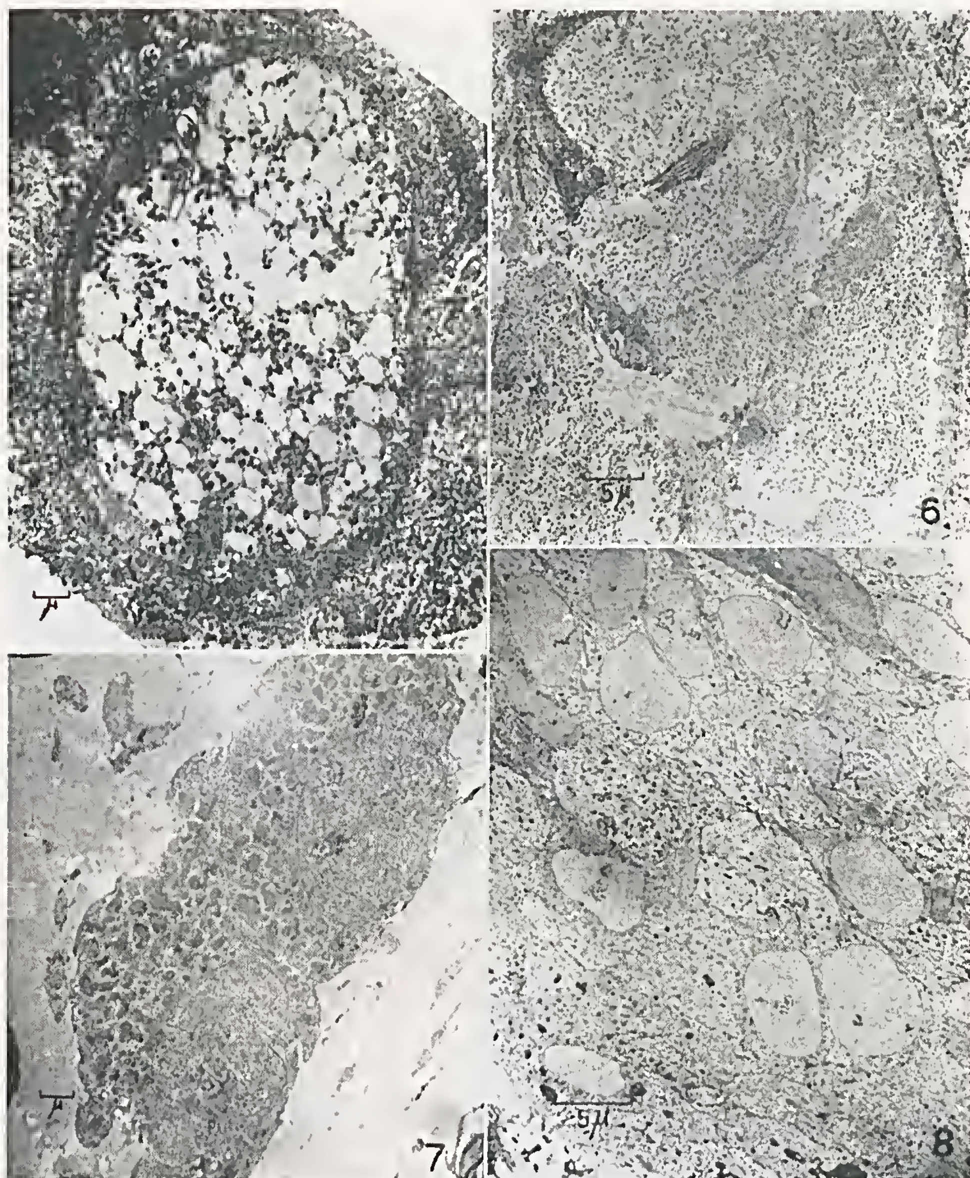


Fig. 1 a 6 — Cortes do epitélio cutâneo de *Sylvilagus* inoculado com o vírus do myxoma.

1) Células de forma e distribuição irregulares, com núcleos (*N*) excêntricos e geralmente rarefeitos (*r*). No citoplasma observam-se numerosas partículas de vírus *V*.

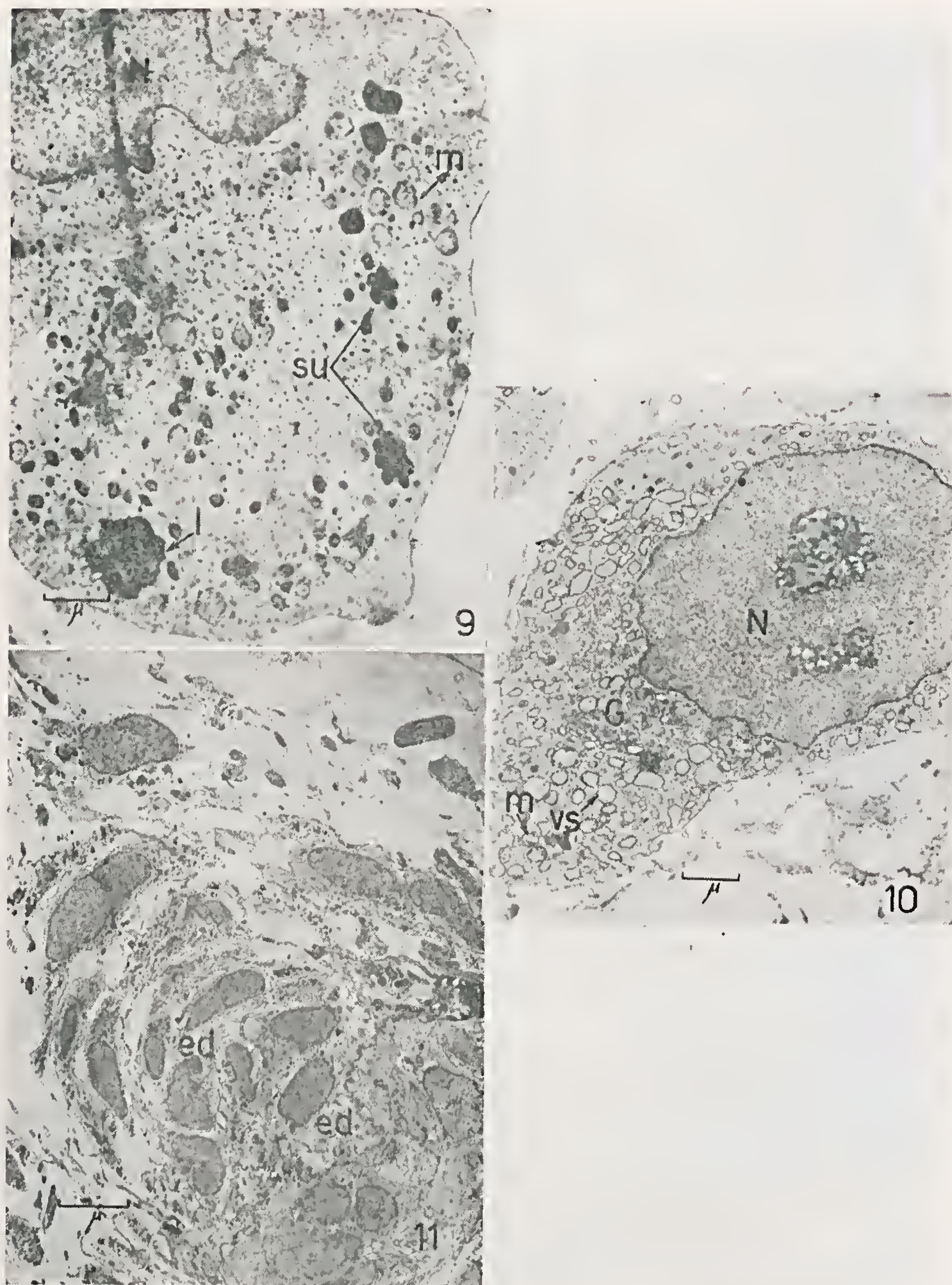
2) Célula com o núcleo *N* excêntrico e rarefeito (*r*). O citoplasma contém numerosos corpúsculos elementares *V*, membranas *me* simples ou duplas, irregulares, e uma região *G* contendo uma massa densa aos eletrons. Observam-se alguns mitocôndrios *m* dispostos no citoplasma periférico; não há mais retículo endoplasmático.



3) Célula com duas inclusões *i*, densas aos eletrons, constituídas por aglomerados compactos de partículas de virus. A inclusão de secção maior, contém algumas vesículas pouco densas aos eletrons, e, próximas a essa inclusão, observam-se partículas de virus *V* livres.

4) No centro da figura, observa-se uma formação aproximadamente circular, limitada por uma massa granular *G*. Esta formação contém vesículas delimitadas por finos cordões citoplasmáticos nos quais se dispõem partículas de virus.

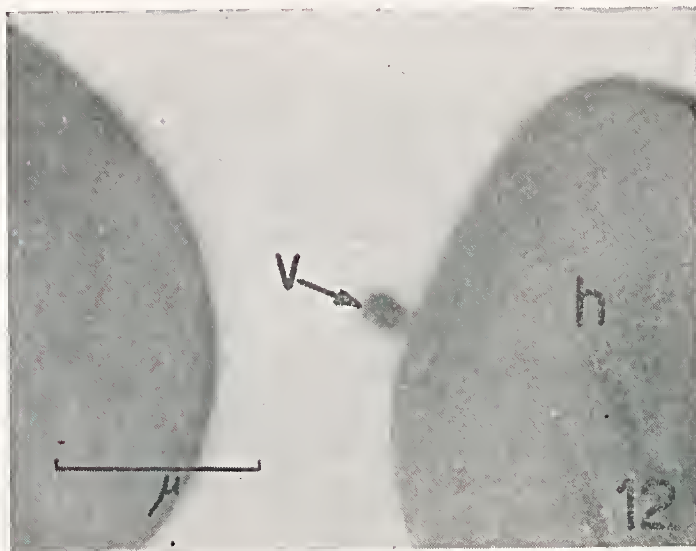
5) Célula com o citoplasma vesiculado, contendo partículas de virus dispostas em cordões citoplasmáticos que delimitam as vesículas. Esta parece constituir uma fase adiantada de degeneração celular devida à infecção.



6) Células totalmente degeneradas, apresentando apenas vestígios de delimitação e contendo pràticamente só partículas de virus maturo.

Fig. 7 — Célula com características de mastócito, encontrada sòmente no tecido conjuntivo de Sylvilagus, contendo grãos de forma variável, densos aos eletrons.

Fig. 8 a 12 — Corte de células de coelho Oryctolagus inoculado com o virus do myxoma.
8) Epitélio cutâneo de Oryctolagus. As alterações do tecido são menores do que no Sylvilagus, quanto à forma e disposição das células.



9) Célula do tecido conjuntivo, não identificada, com o núcleo *N*, contendo subunidades *SU* das quais se originam as partículas de vírus; *m* — mitocôndrios; *l* — inclusão lipídica.

10) Célula myxomatosa com numerosas vesículas *VS* associadas aos grãos de ribonucleoproteínas; *N* — núcleo; *G* — zona de Golgi; *m* — mitocôndrios.

11) Capilar obliterado pela proliferação de células endoteliais *ed*, segundo alguns autores (12).

12) Hemácia *h* de sangue de coelho no período agônico da infecção, contendo uma partícula *V* adsorvida à membrana.

Fig. 1 to 6 — Sections of cutaneous epithelial cells of the wild rabbit *Sylvilagus*, infected by myxoma virus.

1) Cells with irregular forms and distribution with excentric and generally rarefacted (*r*) nucleus *N*. Numerous viruses particles *V* are seen in the cytoplasm.

2) A cell with an excentric and rarefacted (*r*) nucleus *N*. The cytoplasm contains numerous elementary corpuscules *V*, simple or double irregular membranes *me* and a granular region *G* with an electron dense mass. Some mitochondria *m* are disposed in the periphery of the cytoplasm. There is not endoplasmic reticulum.

3) A cell with two electron dense inclusions *i*, constituted of agglomerated virus particles. The greater section contains some vesicles of low electron density and near to this inclusion free virus particles *V* are seen.

4) In the center of this figure, an approximately circular formation limited by a granular mass *G*, is seen. This formation contains vesicles limited by fine citoplasmic cords in which virus particles dispose themselves.

5) A vesiculated cell with virus particles disposed in the cytoplasmic cords. This seems an advanced phase of cellular degeneration due to the viral infection.

6) Totally degenerated cells with debries of cellular membranes, containing practically only mature virus particles.

Fig. 7 — A cell with characteristics of mast-cell, observed only in the Sylvilagus conjunctive tissue. It contains electron dense grains of variable forms.

Fig. 8 to 12 — Sections of cutaneous tissues and cells of the domestic rabbit Oryctolagus, inoculated with the myxoma virus.

8) Cutaneous epithelium in which alterations are not so evident as in Sylvilagus, concerning the form and disposition of the cells.

9) A not identified conjunctival cell, with the nucleous *N*, containing subunits *SU* from which virus particles are originated; *m* — mitochondria; *l* — lipidic inclusion.

10) Myxomatous cell with numerous vesicles *VS*, associated to ribonucleoprotein grains; *N* — nucleous; *G* — Golgi zone; *m* -- mitochondria.

11) A blood capilar obliterated by the proliferation of endothelial cells *ed*, accordingly to some authors (12).

12) A red blood cell *h* of rabbit in the agonic period of the infection, containing on the membrane an adsorbed particle *V*.

No tecido conjuntivo não observamos inclusões a vírus nos vários tipos de células. Epstein e col. (22) mostraram partículas de dimensões e formas irregulares, o que não convence quanto a sua natureza viral, no citoplasma de células identificadas como sendo myxomatosas.

Encontramos com freqüência, células contendo numerosos grãos de forma e dimensões características que poderiam ser identificadas como mastócitos (fig. 7).

Oryctolagus — O epitélio cutâneo dêsses animais, se apresenta menos infestado por partículas de vírus do que o do coelho silvestre.

As células sofrem alterações em menor grau, quanto à forma, disposição no tecido e quanto a posição dos núcleos que se situam normalmente (fig. 8). Como no coelho silvestre, mitocôndrios e retículo endoplasmático diminuem em número e extensão, respectivamente, até o seu desaparecimento quando a célula está totalmente infectada.

Nestas células surpreendemos diferentes fases de desenvolvimento das partículas semelhantes às dos vírus integrantes do grupo pox, já descritas por vários autores, acima citados. Estas fases não são observadas com freqüência nas células epiteliais da pele de Sylvilagus, provàvelmente por ser mais rápido o processo de desenvolvimento do vírus nêstes animais. Verificamos entre partículas maturas, mais densas na periferia, e, medindo 195x420 mμ, corpúsculos imaturos de 220 x 265 mμ. As partículas, à medida que se desenvolvem, diminuem em dimensões, e aumentam em densidade aos electrons. A fase inicial da evolução é semelhante à do vírus vacínico, já descrita por Vallejo-Freire e col. (16), surpreendida numa célula do tecido conjuntivo, não identificada. Os corpúsculos elementares se originam de regiões densas, denominadas subunidades, por um processo semelhante ao de um brotamento. As partículas se individualizam durante o desenvolvimento até se tornarem livres no citoplasma. As subunidades medem, aproximadamente, em secções, 800 x 460 mμ (fig. 9).

O tecido conjuntivo apresenta, com freqüência, células alongadas, às vêzes de forma dendrítica, que seriam responsáveis pelo desenvolvimento da tumoração. São,

por êstes aspectos, consideradas como sendo as células chamadas myxomatosas (fig. 10). Além de mitocôndrios, aparelho de Golgi e retículo endoplasmático, estas células contêm, mantendo continuidade com esta última estrutura e distribuídas por todo o citoplasma, vesículas delimitadas por membranas associadas a gãos provàvelmente de ribonucleoproteinas, dadas as dimensões que apresentam (150-200 Å). Não observamos no tecido conjuntivo de *Oryctolagus,* células com características de mastócitos. É comum surpreender capilares parcial ou totalmente obliterados. Esta obstrução é devida à proliferação das células endoteliais, fenômeno já observado por Hurst (12). Há destruição dos demais elementos dos vasos, podendo ocorrer um extravazamento de hemácias, que se dispõem nas proximidades dos mesmos (Fig. 11).

A infectividade do sangue foi constatada por Splendore (2) e Sanarelli (1) 48 horas após inoculação subcutânea e 24 horas quando a inoculação era endovenosa. A infectividade do sangue se inicia no segundo dia e perdura até o período agônico (6), tendo Moses (4) obtido um maior título nesta última fase da moléstia. Na fig. 12, observa-se a secção de uma hemácia, de sangue de Oryctolagus no período agônico, tendo adsorvida à sua membrana, uma partícula de secção elipsoídica, de dimensões (250 x 180 mμ) e densidade aos electrons que se aproximam das do vírus do myxoma. Êste seria o meio de disseminação do vírus no organismo do animal, resultando na generalização da tumoração.

Surpreendemos aspectos da myxomatose visando não sòmente a observação das alterações celulares mas também acompanhar as diferentes fases do ciclo evolutivo do vírus, o que oferece dificuldades, pois quando a tumoração se manifesta, as partículas encontram-se já numa fase adiantada de desenvolvimento. Fazendo-se a biópsia do local da inoculação, encontramos alterações que podem ser atribuídas também à ação mecânica exercida pela agulha, além das devidas à atividade do vírus. Afim de contornar estas dificuldades, estamos estudando o ciclo evolutivo do virus utilizando a técnica de cultura de tecido epitelial de rim de coelho, o que constitui um sistema simples de trabalho para esta investigação.

Sumário

Tumores cutâneos de coelhos domésticos (*Oryctolagus* sp.) e Silvestres (*Sylvilagus* sp,), com myxomatose, foram estudados por meio de cortes ultra-finos ao microscópio eletrônico.

São analizadas não sòmente as alterações celulares devidas a infecção pelo vírus, mas também os diferentes aspectos correspondentes às várias fases do desenvolvimento das partículas, nos tecidos epitelial e conjuntivo da pele de ambos os gêneros. A viremia em alguns animais foi igualmente observada.

Summary

Tumors of domestic (*Oryctolagus*) and wild (*Sylvilagus*) rabbits with myxomatosis, obtained by biopsy with the skin were studied through the electron microscopy of thin sections of the tissues.

Not only the cellular alterations, due to the viral parasitism, but also the different aspects of the corresponding phases of particles development in the epitelial and connective skin tissues of both genus were analysed. The viremia was also observed in some domestic animals.

Bibliografia

1. *Sanarelli, G.* — Das myxomatogene Virus. Centralblatt Bakter., **23**(20):865-873, 1898.
2. *Fenner, F.* — Classification of myxoma and fibroma viruses. *Nature,* **171**:562-563, 1953.
3. *Splendore, A.* — Il virus mixomatoso dé conigli. *Rev. Soc. Cient. São Paulo,* n.º 1-2:13-15, 1908.
4. *Moses, A.* — O Virus do mixoma dos coelhos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* **3**:46-53, 1911.
5. *Aragão, H. B.* — Sôbre o micróbio de myxoma dos coelhos. *Brasil Med.,* **47**: 471, 1911.
6. *Aragão, H. B.* — Myxoma dos coelhos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* **20**:225-236, 1927.
7. *Torres, C. M. e Almeida Cardoso, R. A.* — Transplantação de baço de coelho com myxoma infeccioso na câmara anterior do ôlho da cobaia. Sôbre a degeneração myxomatosa. Inclusões intranucleares. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* **53**: 367-377, 1955.
8. *Lipschütz, B.* — Untersuchungen über die Aetiologie der Myxomkrankheit des Kaninchens. *Wiener Klin. Wochschr.,* **40**:1101-1103, 1927.
9. *Findlay, G. M.* — Notes on infectious myxomatosis of rabbits. *British Jour. Exptl. Path.,* **10**:214-219, 1929.
10. *Rivers, T. M.* — Changes observed in epidermal cells covering myxomatous masses induced by Virus Myxomatosum (Sanarelli). *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.,* **24**:435-437, 1926-27.
11. *Rivers, T. M.* — Infectious myxomatosis of rabbit. Observations on the pathological changes induced by Virus Myxomatosum (Sanarelli). *J. Exptl. Med.,* **51**:965-976, 1930.
12. *Hurst, S. W.* — Myxoma and the Shope Fibroma. I. The Histology of Myxoma. *British J. Exptl. Path.,* **18**:1-15, 1937.
13. *Rooyen, C. E. Van and Rhodes, A. J.* — Centrifugation of the elementary bodies of infectious myxomatosis of the rabbit. *Zentr. Bakt.,* **140**:117-120, 1937.
14. *Borries, B. von, Ruska, E. und Ruska, H.* — Bakterien und virus in übermikroskopischer aufnahme. *Klin. Wosch.,* **17**(27):921-925, 1938.
15. *Morgan, C.; Ellison, S. A.; Rose, H. M. and Moore, D. H.* — Structure and development of viruses observed in the electron microscope. II. Vaccinia and fowl pox viruses. *J. Exp. Med.,* **100**:201-309, 1954.
16. *Vallejo-Freire, A.; Brunner, Jr., A. and Beçak, W.* — Vaccinia virus multiplication in rabbit-kidney cell cultures. Aspects of the evolution cycle. *Mem. Inst. Butantan,* **28**:275-284, 1957-58.
17. *Peters, D.* — Morphologie menschen und tierpathogener viren. *Zentr. Bakt. Pars. Infekt. Hyg.* **176**:259-295, 1959.
18. *Hygashi, N.; Ozaki, Y. and Ichimia, M.* — Electron Microscopy of Pox Virus to cell adsorption and the ultrastructure of developmental forms of pox virus. *J. Ultrastructure Res.,* **3**:270-281, 1960.
19. *Flewett, T. H.* — Intracellular growth of some viruses of the pox group. An electron microscopic study of infected chick chorionic cells. *J. Hyg.,* **54**:393-400, 1956.
20. *Dourmashkin, R. and Bernhard, W.* — A study with the electron microscope of the skin tumor of molluscum contagiosum. *J. Ultrastructure Res.,* **3**:11-38, 1959.
21. *Eaves, G. and Flewett, T. H.* — The structure of fowl-pox inclusions (Bollinger Bodies). *J. Hyg.,* **53**:102-105, 1955.
22. *Epstein, B.; Reissig, M. and De Robertis, E.* — Studies by Electron Microscopy of Thin Sections of Infectious Myxomatosis in Rabbits. *J. Exptl. Med.,* **96**:347-354, 1952.

MULTIPLICATION OF MYXOMA VIRUS IN EPITHELIAL CELL CULTURE OF RABBIT KIDNEY

E. de RIZZO, A. BRUNNER Jr. and A. VALLEJO-FREIRE

Virus Department, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

The study of the development of virus, utilizing the tissue culture technique, permitted to follow the various phases of particle formation from adsorption to maturation. This simple system presents less factors interferring in the mechanism, permitting, with even higher evidence, the observation of alterations caused by intracellular parasitism, different from the ones caused by tissue ageing.

Sanarelli (13) was the first author to show that the rabbit myxoma has a virus as its ethiological agent, which is presently classified as a member of the Pox group (6).

The verification of virus presence in the cell, as a morphologic entity, was done by Aragão (1) and has been confirmed by several other studies; (12, 10, 7). The first photos of partially purified virus, at the electron microscope, were done by von Borries et al. (3). Its presence in the conjunctive cell, denominated myxomatous, was evidenced by Epstein et al. (5); those documentations, however, are not convincing, since the particles do not show constant shape and size.

Some aspects on virus infection in conjunctive and epithelial tissue of the domestic rabbit (*Oryctolagus* sp.) and of the wild one (*Sylvilagus* sp.) were described in a more recent paper (15).

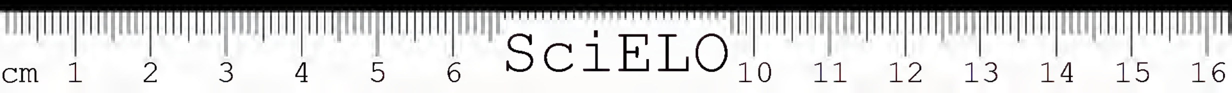
Several authors succeeded in the multiplication of the virus in rabbit tissue culture, as well as in pleural cavity cells, (2), testicle, (16), and more recently, in epithelial tissue of kidney (4). The methods used in our laboratory to study the evolutional cycle of vaccine virus (14), permitted to follow some phases of the virus development at the electron microscope.

The purpose of this work is to show, at the electron microscope, the cellular alterations through culture infections by virus of low and high passages.

Materials and methods

Cell cultures — Casein-hydrolysate medium, (8, 9), has been used with the following modifications:

Received for publication in march 25, 1968.



a) Lactalbumin hydrolysate (enzymatic) instead of Caseyn hydrolysate.

b) 0.07% final of lactalbumin hydrolysate instead of 0.05%.

c) no alpha-thocopherol.

The medium for culture growth contained 18 to 20% inactivated calf serum. The inoculated cultures sometimes received no more than 5% serum, but in general, during growth and after inoculation, the culture medium was enriched with 18 to 20% calf serum, adding 200 U.I. Penicillin and 50 μg Streptomycin.

Primary rabbit (60 to 70 days old) kidney cell cultures were obtained by 0.20% trypsin dispersion in phosphate buffer solution at room temperature and moderate stirring during 4-5 hours. After filtration through 8 layers of cheese cloth, the cell suspension was centrifuged (20 min at 45 g) and the sediment washed in serum-free medium. The cells were centrifuged and suspended in culture medium enriched with 18% calf serum and antibiotics. After incubating for 48 hours at 37°C the medium was discarded, new one was added and generally the cultures became confluent in three to four days. A previous washing was done with warmed PBS to remove destroyed cells. Since the growth medium with the same percentage of serum and antibiotics was to be used also for maintenance of the inoculated cultures, no washing was necessary to remove serum excess.

While the cultures did not show a cytopathic effect the medium was changed every 2 or 3 days. Harvesting of the supernatant of the inoculated tubes was done after stirring with glass pearls, to liberate cells not yet detached, when the cytopathic effect and infection of the whole layer appeared.

Only primary cultures of rabbit kidney cells were used to obtain passages but replication cultures were used sometimes for virus titration.

Virus — The sample was originally isolated by P. M. Freire from the Instituto Biológico de São Paulo, during an outbreak in a rabbit colony at Itaquaquecetuba, São Paulo. It has had two rabbit passages. The resulting tumours were maintained in glycerin solution at -20°C. A fragment of these tumours was used as inoculum for rabbits *Oryctolagus*, after being triturated with sand and buffer.

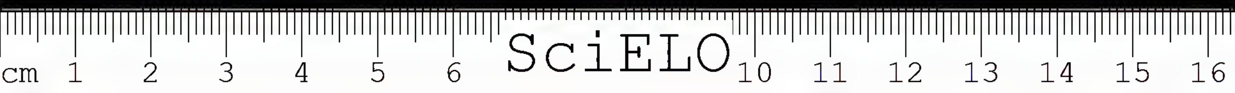
Two virus samples obtained from experimental tumours were used in this work:

Sample E — has been inoculated in tubes and bottles, dilutions of 1:10 till 1:1.000. The supernatants of the infected tubes and bottles were harvested after 7 days, and when inoculated in rabbits proved to be non-infectious.

Sample D — has been inoculated in tubes and bottles, incubated for 31 days with periodical changes of medium.

The supernatant harvested on the 31st day from several tubes proved infectious when inoculated in rabbits. The same occurred with the supernatants harvested from bottles on either the 7th, 13th and 20th day. The virus harvested from the tubes on the 31st day, constituting the first passage of myxoma virus in rabbit kidney cells, was used as inoculum for the second passage of the virus in the same cell system. For the subsequent passages always the pure supernatant has been used as inoculum.

As the myxoma virus is of slow adaptation to cultures, it has been kept in contact with the cells during variable periods of time in the incubator at 37°C.



The first change of medium was done only after 96 hours. In the continuance of the passages, the adaptation time virus-to-cell at the incubator was given up and the first change was done after 48 hours.

An immune-serum was prepared in rabbit by one endovenous inoculation of 1.0 ml of suspension of virus of high passage (38th). The bleeding was done by cardiac-puncture 15 to 20 days after inoculation and the obtained serum was inactivated, distributed to flasks and stored at —20°C.

Electron microscopy — The electron micrographs showed infected cells collected 20 to 48 hours after contact with myxoma virus of the 10th, 33rd and 38th passage in tissue culture. Only the virus of the latter induced evident cytopathic effect.

After elimination of the medium, the infected cultures were trypsinized for 5 minutes at 37°C with a 0.20% trypsin solution (Difco 1:250) in phosphate buffer (pH 7.0), to detach the tissue from tube walls. The cell suspensions obtained were centrifuged for 10 minutes at 60 g and the sediment was resuspended in osmic acid at 1% in subtosan. After fixation for 15 to 20 minutes the cells were dehydrated in alcoholic series and included in a 3:7 mixture of methyl-butyl metachrylate. Every change of medium from fixation to final inclusion was done after successive centrifugation and decantation.

Ultrathin sections were obtained through a Porter-Blum microtome and examined with a Siemens ÜM 100 b and a Elmiskop 1 microscopes, magnifying x 1.300 to x 20.000. The electromicrographs were amplified photographically.

Results and discussion

In the passages from 1 to 12 the virus did not induce any cytopathic effect in the cultures, but the samples collected from the replaced media, showed always a positive lethal result when inoculated in rabbits.

From the 13th passage on, a morphologic alteration of the infected cells started 40 to 50 hours after inoculation, diminishing the time necessary to appear this cytopathic effect until, in the 67th passage, 50% of the culture showed the effect even before the 20th hour after infection.

There also appeared a change in the pathogenic properties of the virus used in this experiment. In the low passages no cytopathic effect was induced by the virus, but when inoculated in rabbits *Oryctolagus*, it proved to be lethal within 10 to 11 days. In the high passages, the virus caused great cytopathic effect showing, however, only antigenic properties.

Rabbits inoculated several times with the virus of the 38th passage, did not show any myxomatous symptoms when inoculated afterwards with virus of low passages. The activity of the virus was determined then by inoculations in monolayer cell cultures. The virus dilutions were done with the same culture medium and 8 to 10 confluent cell cultures received each 0.1 ml of the virus dilution. 0.9 ml of culture medium with calf serum and antibiotics were added to complete the volume to 1.0 ml. After an incubation for 48 hours at 37°C the reading of the infected tubes was done and the $TCID_{50}$ (Reed-Müench method) resulted in titer of $10^{9.19}$ / 0.1 ml (38th passage). Mc Kercher & Saito (11) obtained a similar result working with the same material and conditions, with a titer of $10^{3.71}$ in the 21st passage and $10^{6.5}$ in the 40th passage.

The myxoma virus obtained in the 38th passage, diluted from 1:10 to 1:100 million, was neutralized with nondiluted immune-serum (mixture of equal parts). Since nothing was known about the activity of the immune-serum, no particular attention was given to inoculate known quantities of virus. It has been observed thus that the serum which neutralized the virus of that passage, proved to be immune.

Electron microscopic observations of the culture cells infected with first passages virus demonstrated nuclear rarefaction as the principal alteration, similar to that observed in epithelial cells of the rabbit *Oryctolagus*, inoculated with pathogenic virus, obtained through passages in animals, or low passages in cultures. Apparently, the cytoplasm still contains imature virus particles, mitochondria and endoplasmic reticulum are present (Figs. 1 and 2). The cultures infected with virus of high passages, antigenic and not pathogenic, present cells with numerous electron dense particles, displayed at the periphery, and corpuscles of low density. Mitochondria and endoplasmic reticulum are present. This aspect corresponds to a still intermediate phase of virus development in cell (Fig. 3). In a more advanced phase of infection the cell components tend to disappear and practically only dense and agglomerated particles may be observed (Fig. 4). In other cells, besides those particles, we found numerous corpuscles, delimited by the membrane and the central region of less electron density (Fig. 5). Remarkable is the fact that in both cases the nucleus did not show rarefaction, only alterations of morphology and disposition.

Probably a relation exists between vacuolated nucleus and pathogenic virus and non-vacuolated nucleus with non-pathogenic but antigenic virus.

This vacuolation is a consequence of the infection of the cells by the loss of nuclear material. The newly formed virus is a structurally complete particle and shows pathogenicity which can be demonstrated by the inoculation of rabbits *Oryctolagus;* tissue cultures infected with this virus do not show any cytopathic effect.

To verify the relation between vacuolation and formation of complete virus particles it would be necessary that the cells incorporate radioactive substances, constituent of their desoxyribonucleic acid or nuclear proteins, infecting them afterwards with the virus, and then doing an autoradiograph of the corpuscles formed in these cells.

Referring to the virus of high passages, incomplete particles also are formed, showing, however, antigenic activity. The synthesis of the virus structural components proceeds intensely, causing a cytopathic effect in a short period of time. In several animals, at the site of inoculation with the 38th passage virus, a small response appeared persisting from 8 to 10 days, with posterior desquamation. This response may be caused by some complete virus that develop in the cultures or by particles of the inoculum of low passages that did not penetrate into the cells and did not follow the successive passages.

Summary

The myxoma virus, isolated from cutaneous tumours of the rabbit *Oryctolagus*, was partially purified and inoculated in epithelial tissue cultures of rabbit kidney. Ultrathin sections from cultures infected with this virus, when observed with the electron microscope, demonstrated frequently a vacuolated nucleus, signifying a loss of nuclear material, evidently related to the infection with the virus of low passage. Nuclear vacuolation has also been observed with frequency in epithelial

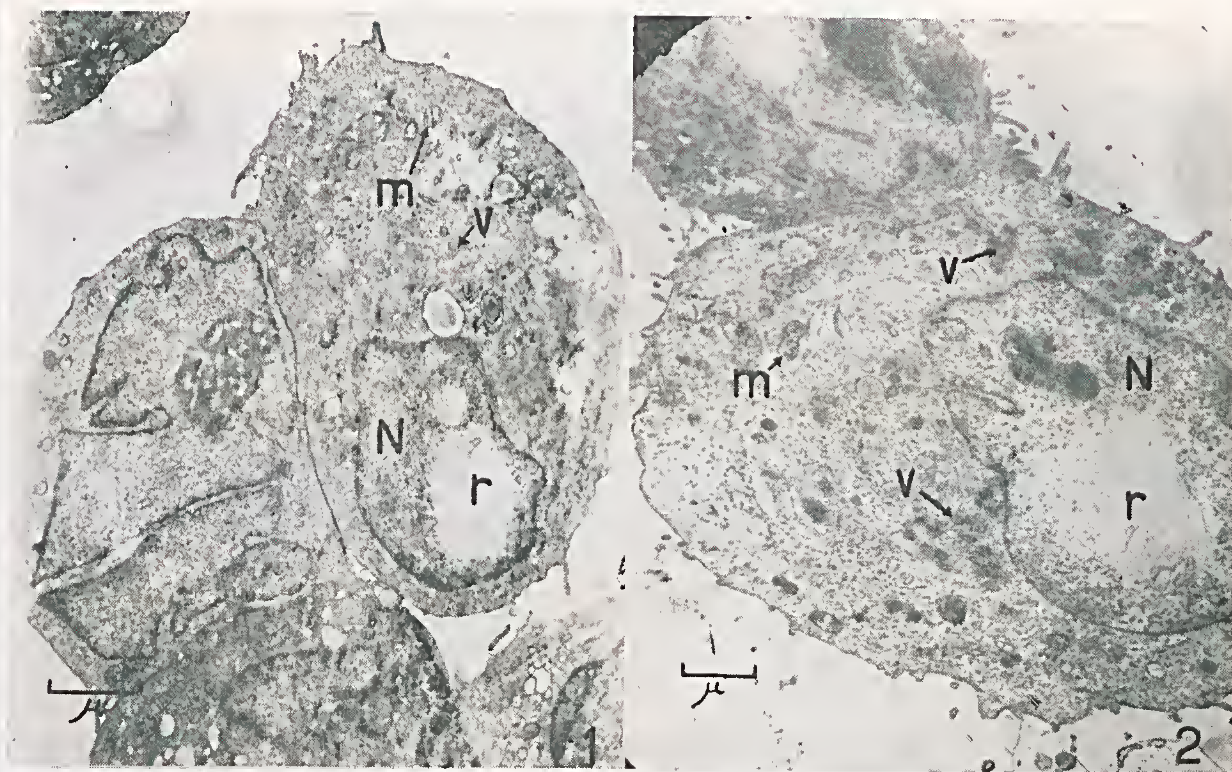


Fig. 1 — Cell infected with virus of 10th passage; N — nucleus with vacuolation r; V — immature virus particles; m — mitochondria. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 24.000.

Fig. 2 — Cell infected with virus of low passage (10th) showing: N — nucleus; r — vaculation; V — immature virus particles; m — mitochondria. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 21.500.

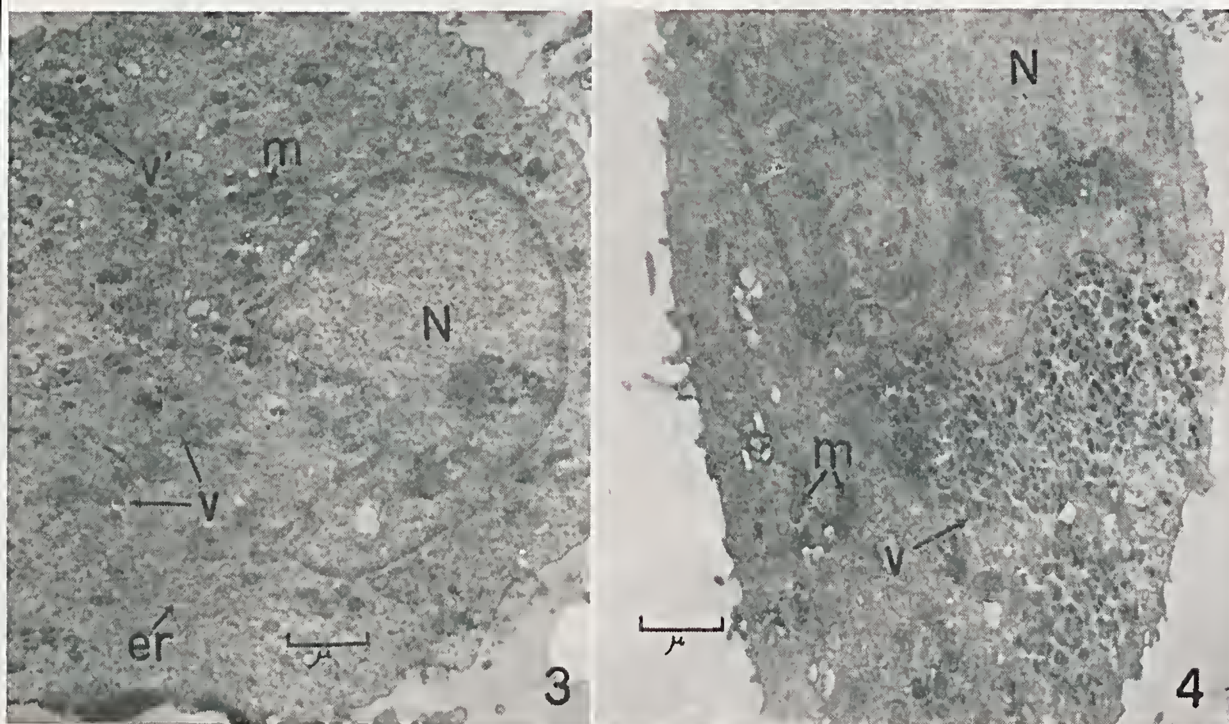


Fig. 3 — Cell infected with virus of high passage (33rd); N — nucleus without vacuolation; V — immature virus particles; V' — viruses in a more advanced phase of development; m — mitochondria. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 21.500.

Fig. 4 — Cell infected with virus of 33rd passage; N — nucleus without vacuolation; V — virus in an advanced phase of development; m — mitochondria in low number. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 21.500.

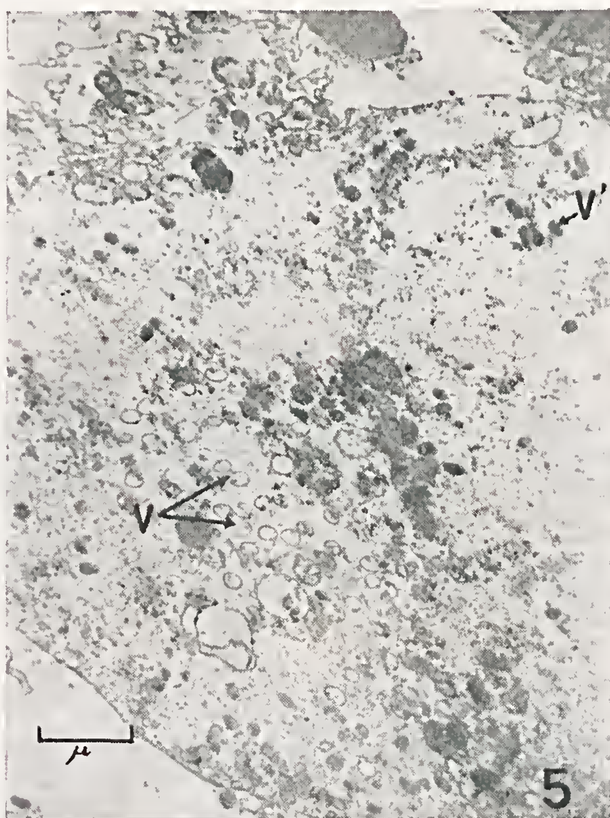


Fig. 5 — Cell infected with virus of 33rd passage; V — virus particles of low electron density, apparently limited only by membranes; V' — electron dense virus particles. Methyl-butyl methacrylate embedding. Magnification: x 24.000.

cells of rabbit skin. Up to the 12th passage, no cytopathic effect occurred, but the virus maintained its pathogenic characteristics when inoculated in rabbits.

The viruses of high passages (33rd and 38th) induced evident cytopathic effect 48 hours after inoculation. They have no pathogenic properties when inoculated in rabbits, but are antigenic. An immune-serum was prepared from those animals and its activity demonstrated by virus neutralization, preventing a cytopathic effect in tissue cultures. Cultures infected with 33rd and 38th passage virus showed cells with numerous particles, however without nuclear vacuolation. It is possible that there exists a connection between vacuolated nucleus and pathogenic virus, and non-vacuolated nucleus with non-pathogenic but antigenic virus.

Resumo

Multiplicação do virus do myxoma em cultura de célula epitelial de rim de coelho

O virus do myxoma, obtido de tumores cutâneos do coelho *Oryctolagus*, foi parcialmente purificado e inoculado em culturas de células epiteliais de rim de coelho. As células das culturas infectadas com êsse vírus, examinadas ao micros-

cópico eletrônico através de cortes ultrafinos, apresentavam núcleo rarefeito, efeito êsse, também observado nas células epiteliais da pele de coelhos. Até a 12.ª passagem não ocorreu efeito citopático e o vírus manteve suas características patogênicas quando inoculado em coelhos.

O vírus de altas passagens (33.ª e 38.ª) provocou efeito citopático evidente nas células das culturas com êle infectadas, embora elas não apresentassem núcleos com rarefação. Quando inoculado em coelhos, o vírus apresentava apenas propriedades antigênicas.

É possível a existência de uma relação entre núcleo rarefeito e vírus patogênico e, núcleo não rarefeito e vírus não patogênico, porém, antigênico.

References

1. *Aragão, H. B.* — Sôbre o micróbio do myxoma dos coelhos. *Brasil Méd.* **47**: 471, 1911.

2. *Benjamin, B. & Rivers, T. M.* — Regeneration of virus myxomatosum (Sanarelli) in the presence of cells of exudates surviving "in vitro". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **28**:791-792, 1931.

3. *Borries, B.; von Ruska, E. & Ruska, H.* — Bakterien und virus in übermikroskopischer aufnahme. *Klin. Woschr.* **17**:921-925, 1938.

4. *Chaproniere, D. M.* — The effect of myxoma virus on cultures of rabbit tissues. *Virology* **2**:599-610, 1956.

5. *Epstein, B.; Reissig, M. & de Robertis, E.* — Studies by electron microscopy of infectious myxomatosis in rabbits. *J. Exp. Med.* **96**:347-354, 1952.

6. *Fenner, F.* — Classification of myxoma and fibroma viruses. *Nature* (London) **171**(4.352):562-563, 1953.

7. *Findlay, G. M.* — Notes on infectious myxomatosis of rabbits. *Brit. J. Exp. Path.* **10**:214-219, 1929.

8. *Lépine, P.; Slizewicz, P.; Daniel, Ph. & Paccaud, M.* — Cultures cellulaires dans un milieu utilisant l'hydrolysat de caséine comme source d'acides aminés. *Ann. Inst. Pasteur* **90**:654-656, 1956.

9. *Lépine, P.; Slizewicz, P.; Daniel, Ph. & Pelmont, J.* — Bésoins nutritifs des cellules rénales de singe et des cellules de la souche HeLa cultivés "in vitro". *Ann. Inst. Pasteur* **92**:567-575, 1957.

10. *Lipchütz, B.* — Untersuchungen über die aetiologie der myxomakrankheit des kaninchens. *Wiener Klin. Wochschr.* **40**:1.101-1.103, 1927.

11. *Mc Kercher, D. G. & Saito, J. K.* — An attenuated live virus vaccine for myxomatosis. *Nature* (London) **202**(4.935):933-934, 1964.

12. *Rivers, T. M.* — Changes observed in epidermal cells covering myxomatous masses induced by virus myxomatosum (Sanarelli). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **24**:435-437, 1926/1927.

13. *Sanarelli, G.* — Das myxomatogene virus. *Centralblatt Bakter.* **23**:865-873, 1898.

14. *Vallejo-Freire, A.; Brunner, Jr., A. & Beçak, W.* — Vaccinia virus multiplication in rabbit kidney cell cultures. Aspects of the evolution cycle. *Mem. Inst. Butantan,* **28**:275-302, 1957/1958.

15. *Vallejo-Freire, A.; Oliveira Filho, B. & Brunner Jr., A.* — Myxomatose experimental em *Oryctolagus* sp. e *Sylvilagus* sp (in press).

16. *Von Haagen & Du, D. H.* — Weitere untersuchungen über das verhalten des kaninchenmyxomavirus "in vitro". *Zbl. Bakt.* (Orig.) **143**:23-31, 1938/939.

CONSIDERAÇÕES SÔBRE A ULTRAESTRUTURA DE UM MELANOMA MALIGNO DO CORPO CILIAR

CELSO DE TOLEDO *

Secção de Microscopia Eletrônica do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

A microscopia eletrônica do melanoma maligno da coróide foi descrita por Bierring, Egelberg, François, Rabaey e Lagasse, (2, 3 e 6), e Jensen, (1), Hogan, e Feeney (5), Kroll e Kuwabara (4). A descrição da ultraestrutura do melanoma maligno do corpo ciliar é, no entanto, muito mais rara.

Nosso trabalho tem por finalidade descrever a eletromicroscopia de um melanoma maligno do corpo ciliar em um ôlho que tivemos a oportunidade de enuclear.

Material e Métodos

O caso por nós operado é o de um moço de 24 anos, branco, brasileiro, comerciário. O tumor, estudado à oftalmoscopia direta, indireta e ao biomicroscópio, com e sem lente de contacto, tinha uma forma elíptica de côr prêta que comprimia e deformava o cristalino por um lado e, por outro, se estendia até os limites da *pars plana.*

Finda a intervenção, o ôlho foi aberto com uma lâmina cortante à altura do equador. O tumor foi dividido em duas metades, sendo uma fixada em formol e enviada para exame anátomo-patológico. Um pedaço da outra metade foi fixado em ácido ósmico a 1%, tamponado em veronal acetato.

A deshidratação foi feita na série alcoólica. A inclusão, fizemo-la em mistura de metil e butilmetacrilatos na proporção de 3:7 com peróxido de bezoíla a 2%, como catalizador, e nitrato de uranila a 0,1%, como corante.

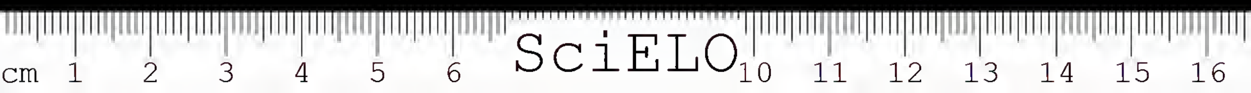
Os cortes foram feitos num micrótomo de Porter-Blum e, depois de colhidos em grades metálicas, foram postos a secar em temperatura ambiente.

Os exames foram feitos nos microscópicos eletrônicos ÜM 100b e Elmiskop I da Siemens. Os aumentos variaram de 7.200x a 40.000x. As chapas foram ampliadas fotogràficamente.

---

* Do Serviço de Oftalmologia do I.N.P.S. (São Paulo). Contratado pelo Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.

Recebido para publicação em 19 de fevereiro de 1968.



Resultados e Discussão

O exame da peça ao microscópio ótico, feito pelo Dr. Donato de Próspero, anátomo-patologista do I.N.P.S., mostrou um melanoma maligno de tipo misto, com células fusiformes e epitelióides. Não foi feita impregnação argêntica para fibras de reticulina.

Provàvelmente por motivos técnicos, por termos usado mais o córtex tumoral ou porque a fixação se iniciou na sala de operações, fora da geladeira, os limites celulares, em muitos campos, não se apresentam retilíneos, com desmossomos, como se vêm em preparações de outros autores.

Um fato que chama a atenção nêste tumor é a grande riqueza em vesículas, que parecem fazer parte do retículo endoplasmático agranular. Na fig. 1 podemos observar esta riqueza em vesículas (V) e em alguns casos, se pode constatar que estão interligadas por canais do retículo endoplasmático (Re); P — pigmento.

Miotocôndrios foram encontrados freqüentemente em grande número. Apresentam-se em forma cilíndrica, circular ou mais ou menos irregulares. Estas formas podem ser observadas na fig. 2; m — mitocôndrios; N — núcleo.

Morfològicamente poderia pensar-se na transformação de mitocôndrios em pigmento, particularmente quando se observam grânulos osmiofílicos no interior dos mitocôndrios. François, Rabaey e Lagasse (3), acharam possível esta transformação. Seiji, Shirmao, Birbeck e Fitspatrick (8), mostraram, por métodos bioquímicos, que isto é improvável, porque os mitocôndrios estão sempre associados à glutamatoxidase e à succinoxidase, ao passo que os grãos de melanina são muito ricos em tirosinase. A fig. 3 mostra uma porção de citoplasma de célula tumoral em que se vêm mitocôndrios (m), alguns com grânulos osmiofílicos, misturados com grande número de grãos de melanina (P).

François Rabaey e Lagasse (6), descreveram, em melanomas malignos, mitocôndrios inchados, com sinais de degeneração turva. Na fig. 4 pode-se observar alguns mitocôndrios (m) entumecidos, em franca degeneração. Em algumas delas ainda se podem vêr cristais intramitocondriais. Ribossomos livres são muito evidentes nesta micrografia.

François, Rabaey e Lagasse (3), descreveram chanfraduras nucleares nêste tipo de tumores. No presente caso, foram observadas freqüentemente pequenas chanfraduras, como são vistas na fig. 5 (Ch). Em alguns casos estas chanfraduras nucleares podem atingir grandes proporções, como se pode observar na fig. 6 (Ch). N — núcleo.

Hogan e Feenay (5), descreveram, em alguns melanomas malignos, células com citoplasma escuro e outras com citoplasma claro. Esta diferença seria devida à maior ou menor riqueza em ribonucleoproteínas. No caso descrito foi observado freqüentemente êste aspecto (fig. 7), claras (c) e escuras (E).

O estudo do pigmento nêste melanoma maligno do corpo ciliar mostra que êle apresenta todos os graus de maturidade desde o melanossomo até a melanina madura. A fig. 8 mostra tôda esta escala evolutiva. Me — melanossoma. P — pigmento em faze de maturação. Observa-se a evidente tendência da melanina em sintetizar-se formando faixas longitudinalmente dispostas. Esta tendência já se esboça nìtidamente no melanossomo (Me). Alguns grãos melâni-

cos, de aspecto compacto, estão muito próximos da maturidade, tendo perdido quase tôda atividade tirosinásica.

A fig. 9 mostra, num mesmo campo, algumas células tumorais (CT) e um macrófago (M). Êste tipo de célula pode ser um macrófago verdadeiro ou uma célula tumoral com atividade fagocitária. Observe-se como as granulações pigmentadas do macrófago são muito mais grosseiras, contendo pigmento e uma substância menos eletrodensa que, em alguns casos, chega a obscurecer a membrana limitante das vesículas.

Nucléolos com estrutura reticular são muito evidentes em grande número de células mas, como no caso de Bierring, Egelberg, e Jensen (1), não vimos retículo endoplasmático granular em quase uma centena de preparações examinadas. A fig. 10 mostra dois nucléolos (NU) bem típicos.

Nada encontrámos, nêste tumor, que se parecesse com virus.

Resumo

Foi estudada a ultraestrutura de um melanoma maligno do corpo ciliar. Talvez por razões técnicas, ou por ter sido usado preferentemente o córtex tumoral, as células não apresentam a coesão intercelular geralmente vista em preparações de outros autores. Estudaram-se os mitocôndrios e suas possíveis relações com a melanina. Constatou-se a presença de pequenas e grandes chanfraduras nucleares. Foram observadas freqüentemente grandes vesículas interligadas, muitas vêzes, por canais do retículo endoplasmático. Observou-se a existência, nêste tumor, de células de citoplasma escuro e de outras de citoplasma claro, de acôrdo com a maior ou menor quantidade de ribonucleoproteínas. O pigmento foi estudado desde a forma de melanossoma até a de melanina madura, sem atividade tirosinásica. Chamou-se à atenção para os nucléolos de estrutura reticular que foram freqüentemente encontrados. Evidenciou-se a presença de macrófago ou de células tumorais com atividade fagocitária. Viu-se freqüentemente, no citoplasma das células tumorais, grande número de ribossomos livres. Não foram observados no tumor, partículas parecidas com virus nem retículo endoplasmático granular.

Summary

The ultrastructure of a malign melanoma of the ciliary body was studied. Perhaps by technicat reasons, or because it was used preferently the tumoral cortex of the cells did not show the intercellular cohesion usually found in the preparations of other papers. Mitochondria and their eventual relations to melanin are studied. Presence of small and large nuclear chanferings are shown. The frequent existence of great vesicles interconnected, often, by canals of the endoplasmatic reticulum is indicated. It was observed that in this tumor exist cells of dark as well as of light cytoplasm in accordance to the major or minor quantity of ribonucleoproteins. The pigment is studied from the form of melanosome to the one of mature melanin, without tyrosinasic activity. Attention was given to the nucleolus of reticular structure frequently found. The presence of macrophages or of tumoral cells with phagocytical activity were observed. In the cytoplasm of the tumoral cells, many free ribosomes were present. In the examined tumor neither granular endoplasmatic reticulum nor virus-like particles were found.

Bibliografia

1. *Bierring, F., Egelberg, J.* e *Jensen, O. A.* — Electron Microscopy of a malignant Melanoma of the Choroid. Acta Ophtalmológica, **41**:224-235, 1963

2. *François, J., Rabey, M. e Lagasse, A.* — Electron Microscopic Observations on Choroid, Pigment Epithelium and Pecten of the Developing Chick in Relation to Melanin Synthesis. Ophtalmológica, **146**:415-431, 1963.

3. *François, J., Rabaey, M. e Lagasse, A.* — Examen au Microscope Electronique dun Sarcome de L'uvée. Ophtalmologica, **137**:65-73, 1959.

4. *Kroll, A. J. e Kuwabara, T.* — Electron Microscopy of Uveal Melanoma. *Arch. Ophtalmology,* **73**:378-386, 1965.

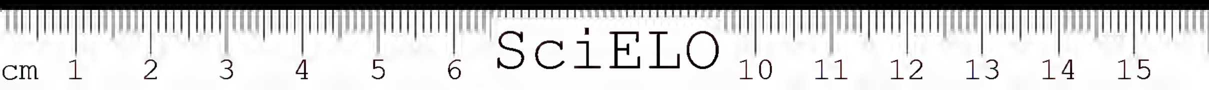
5. *Hogan, M. J. e Feeney, L.* — Ultrastructure of Malignant Melanomas of the Chordid. *Investigative Ophtalmology,* Vol. 1, N.º **4**:544-555, 1962.

6. *François, J., Rabaey, M. e Lagasse, A.* — Electron Microscopic data on Pigment Formation in Melano-Blastomata. *Arch. of Ophtalmology,* **64**:377-381, 1960.

7. *Duk-Elder, S.* — System of Ophtalmology — Londres, Vol. IX:880, 1966.

8. *Seiji, M., Shirmao, K., Birbeck, M. e Fitspatrick, T.* — Sub-Cellular Localization of Melanin Biosynthesis. *Annals of the New York Academy of Sciences,* **100**:497-533, 1963.

9. *Toledo, Celso, A. P. de* — Eletromicroscopia da Melanina Conjuntival Límbica Humana. Considerações sôbre sua Biossíntese. *Revista Brasileira de Oftalmologia,* Vol. XXV, N.º **4**:305-310, 1966.



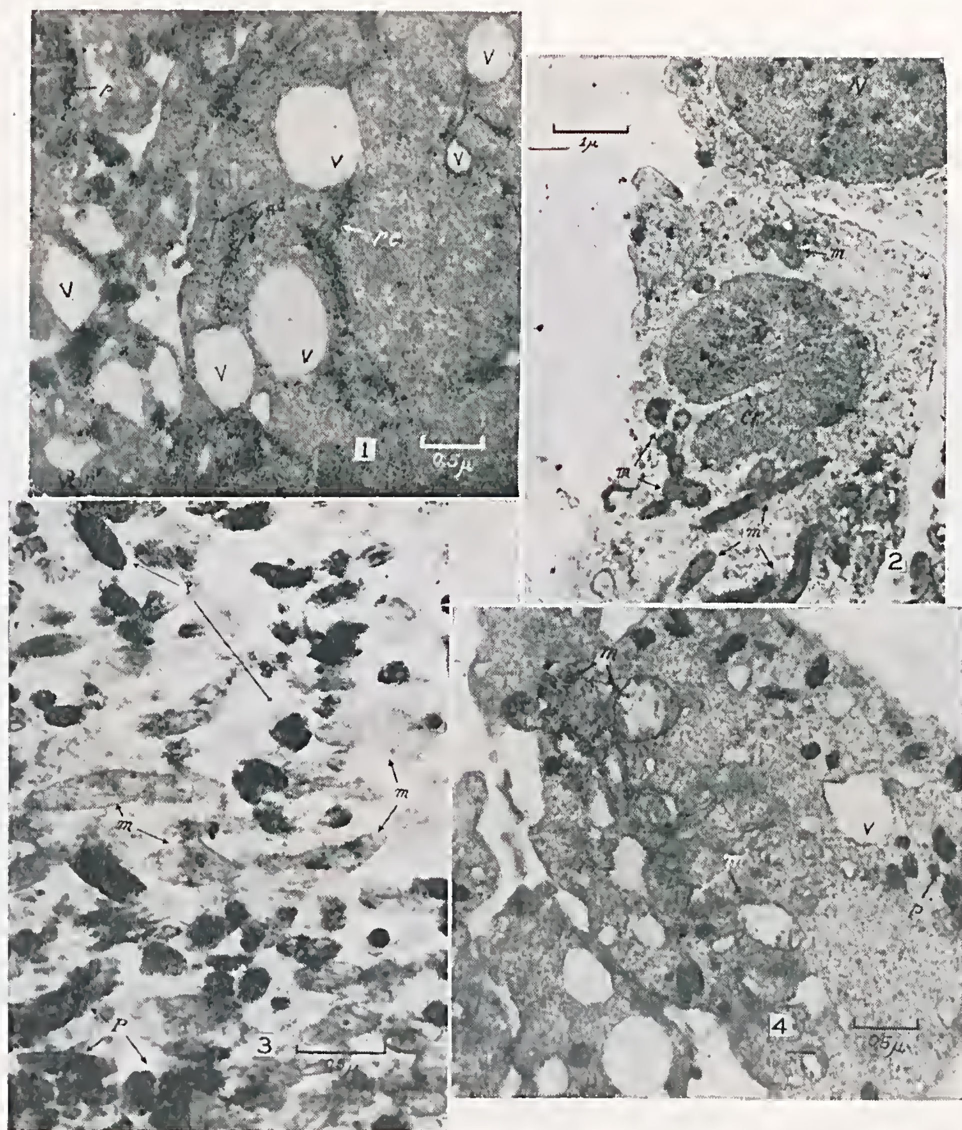


Fig. 1 — Parte do tumor fixado em ácido ósmico a 1%, tamponado em veronal acetato mostrando riqueza em vesículas. V — vesículas; Re — retículo endoplasmático; P — pigmento.

Fig. 2 — Presença de mitocôndrios no mesmo material. m — mitocôndrios; N — núcleo.

Fig. 3 — Porção do citoplasma de célula tumoral. m — mitocôndrios; P — gãos de melanina.

Fig. 4 — Mitocôndrios inchados; m — mitocôndrios.

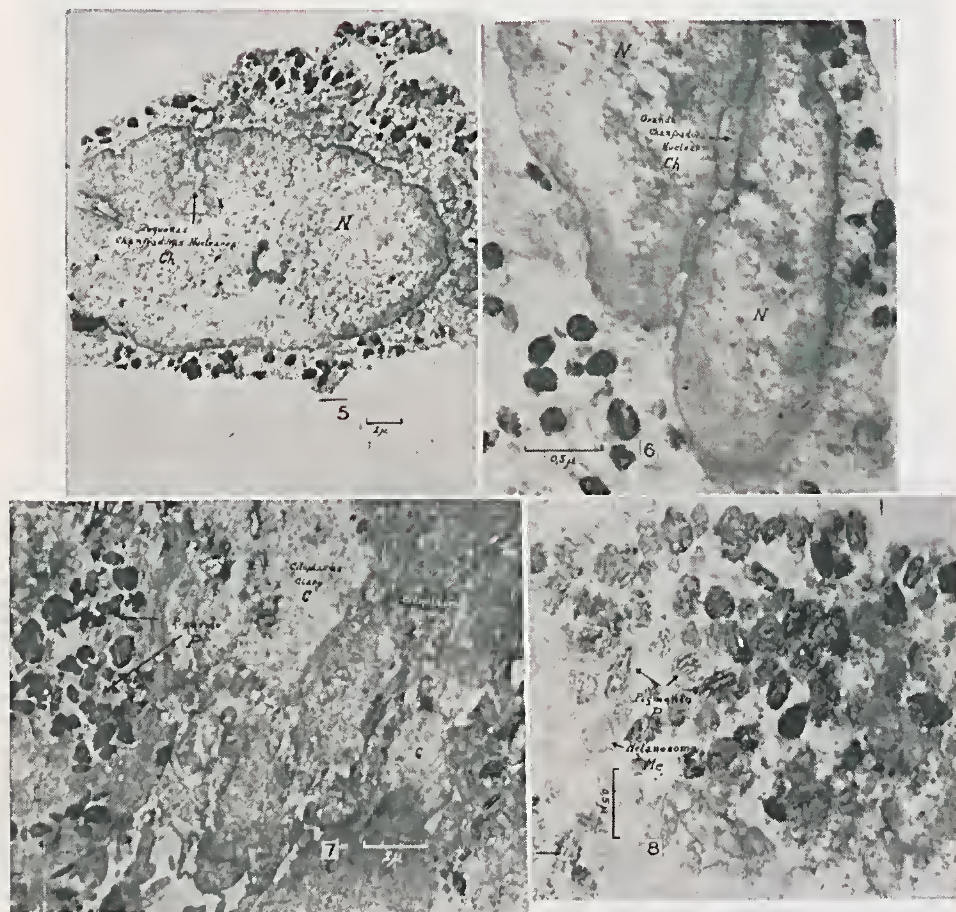


Fig. 5 — Chanfraduras nucleares; Ch — chanfradura.

Fig. 6 — Ch — chanfradura; N — núcleo.

Fig. 7 — Preesnça de células com citoplasma escuro e com citoplasma claro. C — claras; E — escuras.

Fig. 8 — Escala evolutiva do pigmento em um caso de melanoma maligno de corpo ciliar. Me — melanossoma; P — pigmento em fase de maturação.

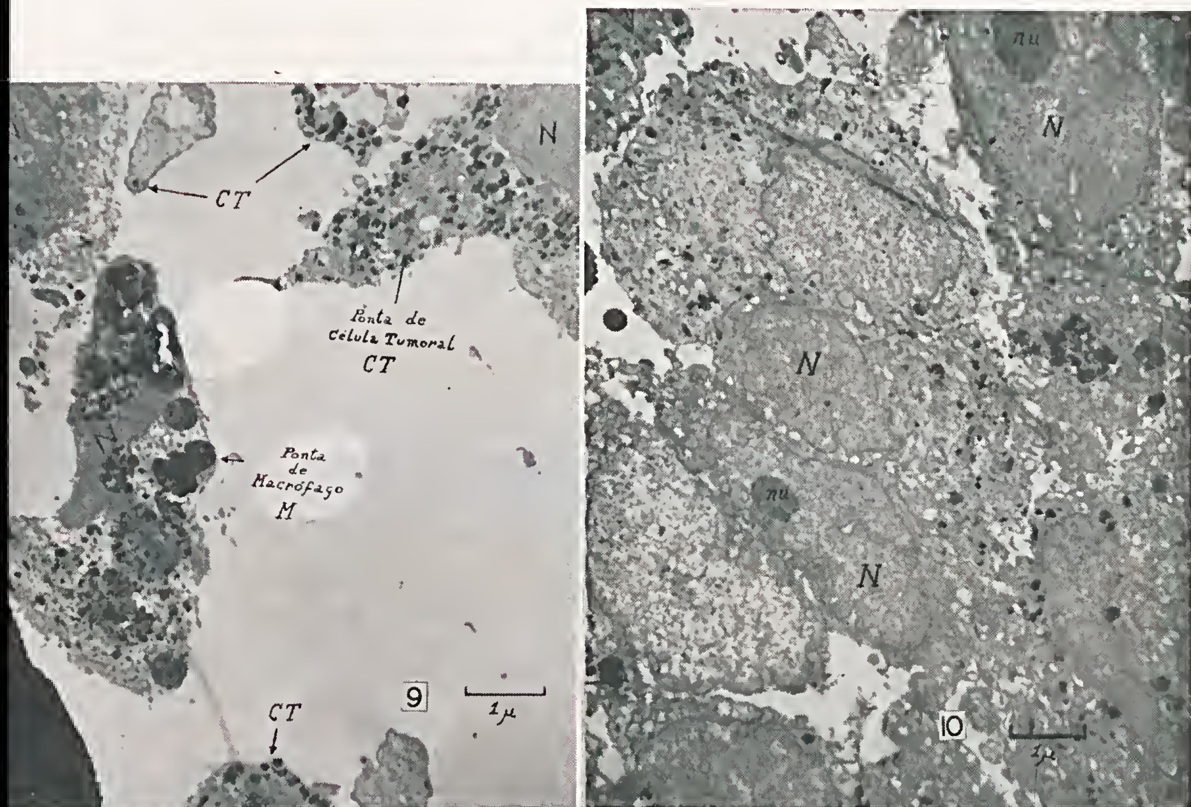


Fig. 9 — CT — células tumorais; M — macrófago.

Fig. 10 — Dois nucléolos bem típicos do tumor. Nu — nucléolos.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

LESÕES RENAIS INDUZIDAS EXPERIMENTALMENTE NO CÃO PELO VENENO CROTÁLICO

MOACYR DE FREITAS AMORIM *, RAUL FRANCO DE MELLO e FERES SALIBA

Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de S. Paulo e Secção de Anatomia Patológica, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Em autopsias humanas de indivíduos intoxicados pela cascavel, *C. d. terrificus*, Amorim e Mello (1952-54) observaram que a morte se dava com um quadro anatomopatológico típico de nefrose hemoglobinurica, também chamada de nefrose do nefron inferior, ou melhor do nefron intermediário, segundo preferiram denomina-la pelas razões que já expuzeram em suas publicações anteriores.

Naquilo que diz respeito ao envenenamento em geral, não encontramos menção alguma à hemoglobinúria em publicações nacionais, como também nas estrangeiras que foram consultadas por nós. Sabemos apenas que se trata, no caso do veneno crotálico (*C. d. terrificus*) de um tóxico fortemente hemolítico (Fonseca, 1949), ao contrario dos venenos do gênero *Bothrops* que apresentam propriedades fortemente coagulantes, sendo até usados terapeuticamente para tal fim, muito embora possuam, igualmente, uma fração hemorragipara.

Pearce (1909) refere ter produzido a hemoglobinúria e a hematúria, em coelhos tratados com veneno de *Crotalus adamanteus*.

Flavio da Fonseca (1949), em seu livro, relata a existência de hematúria, albuminúria e anúria (pg. 145). Êstes fenômenos são descritos, principalmente em relação aos acidentes por veneno botrópico, nos quais o autor descreve hemorragias da mucosa bucal, uterina, intestinal e pelos ouvidos, "vômitos e urina sanguinolentos" (pg. 136). "As hemorragias pelas mucosas são causadas por lesão do endotélio capilar pela histamina libertada", do mesmo modo como "as hemorragias em orgãos importantes da economia" (pg. 145). Fonseca refere-se também, de um modo geral, à ação hemolítica dos venenos ofídicos, isto é, "destruidora dos globulos vermelhos, alterando o sôro sanguíneo, que passa a exercer uma ação dissolvente sôbre as hemácias, graças à transformação da lecitina em uma substância altamente hemolítica, a lisolecitina". Nêsses casos, não se refere nem uma vez à existência ou não da hemoglobinúria, isto é, à presença de hemoglobina livre na urina, sem a coexistência de hematúria.

Schöttler (1951), em seu trabalho de revisão da toxidêz dos principais venenos ofídicos do Brasil, acentua com razão que o veneno crotálico quase não causa alterações macroscòpicamente visíveis. Não se refere, nenhuma vez sequer,

---

* Professor Catedrático de Anatomia e Fisiologia Patológicas da Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de S. Paulo.

Recebido para publicação em 20 de março de 1968.

às lesões renais ou à ação dos venenos ofídicos, em geral, sôbre o rim ou sôbre o sangue, nem a uma ação hemolítica e muito menos à hemoglobinúria. Refere-se ao poder proteolítico do veneno, com libertação de histamina e de suas ligações celulares e também, a um princípio hemorrágico, ou hemorragina, que faltaria não de todo ao veneno crotálico. Segundo Schöttler, a toxidêz do veneno crotálico, aliás a maior de tôdas, seria, principalmente baseada na chamada *neurotoxina.* Não se refere porém à gravidade das lesões renais. Conforme Schöttler, existiriam diferentes tipos de hemorragina com afinidade especial para certos orgãos. Conclui também que "there exists a marked variation among the individual venoms of the same species" (pg. 498). Sòmente na página 494 faz referência ao fato de que "macroscopically discernible blood in urine and feces was not infrequently manifest". Trata-se porém como se percebe de uma observação apenas "*macroscópica*" deduzida, provàvelmente, da côr da urina. Como o autor não refere, nêsse trecho, qual dos venenos se achava em jogo, falando sempre de um modo geral sôbre o efeito de vários venenos, indistintamente, sem fazer referência a diferenças no seu mecanismo de ação patogênica, concluimos que na hipótese de haver realmente eritrocitos, microscòpicamente, na urina, nêsses casos deveria se tratar, provàvelmente de outros venenos (botrópico ou outro).

Quanto à produção experimental da nefrose hemoglobinúrica, é sabido como vários autores tem chamado a atenção sôbre a dificuldade em consegui-la. Assim, Yuile, Gold e Hinds (1945) referem justamente que "*the mechanism involved in the production of this type of renal failure has remained a mystery despite the effort of many investigators would appear to be due, at least in part, to the difficulties encountered in attempting to produce a similar lesion in the kidneys of experimental animals*".

Talvez, por êsse motivo poucos são ainda os investigadores que trabalharam sôbre o assunto, conseguindo reproduzir experimentalmente o quadro da nefrose, pelo menos, com a semelhança dos característicos que ela apresenta no homem, e tornados bem conhecidos sobretudo com as descrições do "*Crush Syndrome*" (Bywaters e Dible, 1942, Ogilvie, 1951), já antes bem descrito, na Alemanha por Minami (1923) sob a designação de "*Verschüttungsnephrose*" e depois por Mallory (1947), como nefrose hemoglobinúrica, estudada por Hamburger (1950), como uma nefrite tubular e também por Lucké (1946) sob a designação de nefrose do nefron inferior, designação essa que Amorim e Mello (1952-54) preferiram substituir pela denominação de Nefrose do Nefron intermediário, repousando principalmente na nomenclatura mais freqüente para designar o setor lesado do nefron.

Yorke e Nauss (1911-12) conseguiram produzir a hemoglobinúria em coelhos, porém sòmente quando êstes eram conservados, previamente, em uma dieta sêca, privada de vegetais verdes, antes da injeção de uma solução de hemoglobina.

Baker e Dodds (1925) elaboraram um método para a preparação de soluções concentradas de hemoglobina que injetavam por via endovenosa em coelhos, concluindo que haveria a necessidade de dois fatôres para a precipitação de hemoglobina: primeiro, uma reação ácida que converta o pigmento em metahemoglobina e possìvelmente "*in turn to acid hematin*"; segundo, a presença de certa porcentagem de sais inorgânicos. Se o pH da urina fôr acima de 6, a hemoglobina é excretada sob a forma de oxyhemoglobina, tornando-se a urina de côr vermelha, não resultando efeitos maléficos. Se a reação da urina tiver pH abaixo de 6 e houver uma concentração suficiente de cloreto de sódio (cêrca de 1%), precipitar-se-á um pigmento marron nos tubulos. A hemoglobina passa através da

cápsula de Bowman, no transudato diluído. Quando êste alcança os tubulos, então a reabsorção e a concentração tomam parte, juntamente com um aumento da acidez da urina. Concluindo, sugerem para o tratamento de tais estados, a produção de uma diurese alcalina.

Yuile, Gold e Hinds (1945), no trabalho já citado acima não conseguiram confirmar os resultados de Baker e Dodds (1925), como também os resultados de Degowin, Osterhagen e Andersch (1937) (injeção de eritróeitos), Bywaters e Stead (1946) (injeção de miohemoglobina), Anderson, Morrison e Williams (1942) (injeção de hematina) e Bing (1943-44) (metahemoglobina) naquilo que diz respeito à obrigatoriedade de acidez da urina na obtenção da hemoglobinúria. Êles concluem que a hemoglobina pura é precipitada com dificuldade, "*if at all*", no rim normal. Segue-se daí, lògicamente que a "*hemoglobinemia per se is in all probability not the basic factor in the production of renal lesion seen in the clinical states under consideration*". Êles referem também de que "as lesões tubulares associadas encontradas nestas lesões foram diversamente atribuidas a efeitos dos pigmentos precipitados, a distúrbios anafiláticos, espasmo de vasos renais, e *à ação nefrotóxica de substâncias exógenas e endógenas*".

Yuile, Gold e Hinds (1945) injetaram a hemoglobina em coelhos com urina ácida ou alcalina, porém cujos tubulos renais haviam sido, prèviamente lesados em grau moderado, ou por pinçamento do pedículo renal, durante menos de 1 hora, ou pela administração de um veneno químico específico do túbulo urinífero, o tartrato de sódio. Obtiveram, regularmente a formação de cilindros de hemoglobina, nos animais com urina ácida, assemelhando-se às lesões obtidas com aquelas do "rim de transfusão" ("transfusion kidney"). Concluem que a precipitação, nos túbulos renais não é, primàriamente, dependente da acidez ou da alcalinidade da urina, "*nem da quantidade de hemoglobina circulante*", mas de alguma anomalia funcional dos nefrons individuais. Tais alterações não seriam etiològicamente, específicas, como bem o demonstram os resultados finais ("*end results*") semelhantes, obtidos com agentes tão diversos como a isquemia, completa ou transitória, ou um *veneno químico tendo uma afinidade particular para os túbulos contornados do rim* ("*a chemical poison having a particular affinity for the convoluted tubules of the kidney*"). O veneno químico específico ("*specific chemical poison*") empregado foi o tartrato de sódio.

Extremamente interessantes são, nêsse sentido, também as observações de Meessen (1952) sôbre a nefrose pelo urânio ("*Uranephrose*") que obteve após a injeção subcutânea em coelhos com 1 ml de solução de urânio a 2%, aplicada duas vêzes. 48 horas depois da última injeção, ou 5 dias após o início da experiência, o rim aparece macroscòpicamente vermelho e tumefeito. Os glomerulos estão intatos. As alterações mais intensas se encontram, nos canalículos, ao nível do limite córtico-medular. A parte inicial do segmento principal fica poupada. Porém, notável foi a observação de Meessen de que nas coelhas prenhes, a ação do urânio se fazia sentir até no rim do feto e nêsse também, os glomerulos e os canaliculos proximais eram absolutamente intatos. Meessen designou essa nefrose de nefrose necrotisante, porém quando a lesão não é muito grave, pode se dar uma restituição marcante por regeneração. A sua localização, na zona limitante córtico-medular, leva a concluir por uma "*eigenartiger elektiver Schädigung bestimmter Abschnitte des einzelnen Nephrons*", que Meessen relaciona de um lado com a circulação renal, pois no féto só os grandes glomerulos justamedulares são irrigados e em seus túbulos é que foi notada a alteração e de outro lado êle relaciona com a estrutura fina dêsses segmentos e com a sua função. Afirma

ainda que outros pesquisadores obtiveram com o nitrato de urânio, em oposição às suas observações, uma lesão igualmente dos glomérulos, isto é, uma glomerulo-nefrose com lesão em foco das alças.

Lalich (1954) obteve, no coelho uma nefrose hemoglobinúrica, por injeção de metahemoglobina combinada com uma dieta alcalina de fosfato de sódio, portanto em animais com alcalinuria. Conclui que "fatôres associados podem ser de maior significação na produção da nefrose hemoglobinúrica do que a *hemoglobinemia per se*". Entre êsses fatôres menciona: lesão tubular antecedente, injeções de histamina ou de arsina, inanição, restrição de água e outros. Porém na sua macrofotografia B, notam-se dois volumosos infartos anêmicos do rim que não são referidos e nem tampouco interpretados no texto.

Material e método

O nosso objetivo principal consistiu em reproduzir um quadro de nefrose hemoglobinúrica que representasse o mais de perto possível o quadro da nefrose humana, tal como foi descrito por Amorim e Mello (1952-54). Em pesquisas anteriores, já haviamos observado que nos envenenamentos superagudos com grandes doses de veneno, ràpidamente letais, dificilmente se observavam as lesões na autopsia. Procuramos nestas experiências utilizar altas doses de veneno, porém subletais, permitindo assim, uma certa duração dos animais, e reproduzindo, si possível a duração característica dessa síndrome, no homem. Como foi estabelecido por Bywaters e Dible (1942) e por Ogilvie (1951) a duração dos casos humanos era de 3 a 7 dias. Igualmente, Amorim e Mello (1952-54), em casos de picados humanos por cascavel encontraram a mesma sobrevida de 3 a 7 dias após a picada pela serpente. Assim, em nossas experiências, partimos de uma dose suposta conveniente para conseguir condições semelhantes, no cão.

Por outro lado, como nos casos humanos de envenenamento, em geral, se intervem com o tratamento pelo sôro, contendo antiveneno, um grupo de cães recebeu também posteriormente, doses de antiveneno, em quantidade em geral suficiente para neutralizar o veneno inoculado.

Na coleta da urina, não utilizamos sondas para evitar que qualquer ação traumática pudesse provocar o aparecimento de hemacias, na urina. Com o fim de ser conseguida a colheita total da urina eliminada, construimos um tipo de gaiola especial com um fundo móvel, em forma de funil achatado por baixo de um piso de tela. O fundo possuia um orifício central pelo qual a urina caia ou era recolhida em um vaso de vidro, protegido por uma fina tela que impedia a passagem de fezes e de resíduos alimentares. Uma parte da urina era centrifugada, fazendo-se a pesquisa de hemácias, no sedimento. A outra parte era filtrada em papel de filtro comum e utilizada para a pesquisa de hemoglobina pelo método de Lepehne (1919) com benzidina. Quando o exame não era feito logo, a urina era conservada em baixa temperatura.

A *reação de benzidina* era feita segundo a técnica descrita em Hawk, Oser e Summerson (1953), seguindo o teste de confirmação por ser mais delicado e sensível. Tomavamos 10 ml de urina acidulada ligeiramente com ácido acético; depois era feita a extração da hemoglobina livre com 5 ml de éter sulfúrico, em um funil separador após agitação. Como sabemos, o ácido transforma a hemoglobina em globina e em hematina, sendo esta última solúvel em éter. O éter era então colocado em uma cápsula de porcelana e em seguida, evaporado até secar, em banho-maria. Ao resíduo, adicionavam-se algumas gôtas de água distilada,

uma gôta de solução saturada de benzidina em ácido acético glacial e uma gôta de água oxigenada a 3%. A reação é positiva quando aparece uma coloração que varia do verde ao azul escuro, conforme a sua intensidade.

Os orgãos, logo depois da autopsia dos cães eram fixados em Bouin, Zenker, Helly, Carnoy e Formol a 10%. Os cortes histológicos eram feitos em congelação e após a inclusão em parafina. Foram os seguintes os métodos empregados para a coloração dos cortes histológicos: Hematoxilina-Eosina, Mallory-Masson, Van Gieson, Weigert para fibras elásticas. A reação de benzidina em córtes histológicos era feita pelo método de Lepehne, segundo a técnica descrita por Roulet (1948) e Romeis (1936). Entre outros corantes, empregamos ainda a hematoxilina férrica de Weigert e o Sudan III. Finalmente, nos casos necessários, para se afastar com mais segurança a possibilidade de alguma dúvida com a glomerulonefrite, foi feita a reação da oxidase em cortes por congelação, segundo o método de Gräff (Roulet, 1948).

Foram constituídos dois grupos de cães; o grupo I foi inoculado só com veneno crotálico e o grupo II, além de ser inoculado com veneno crotálico, foi tratado com antiveneno.

No primeiro grupo, empregamos cães adultos, cujo pêso corporal variou de 6 a 14 quilos, sendo 7 machos e 1 fêmea. Foi utilizado veneno sêco de cascavel (*C. d. terrificus*), na quantidade de 0,5 a 2,0 mg por quilo de pêso corporal. A atividade do veneno crotálico empregado foi de 1 a 2 microgramas, dose mínima mortal para pombos de 250 a 320 grs de pêso corporal. O veneno sêco uma vez pesado era prèviamente dissolvido em solução fisiológica na proporção de 0,5 a 1,0 ml por quilo de pêso corporal, sendo administrado por injeção subcutânea. Todos os animais receberam uma única injeção subcutânea, com a exceção dos cães n.º 9 e n.º 10 que foram injetados 3 vêzes (quadro 1), sendo 2 vêzes com 0,5 mg e 1 vez com 1.0 mg de veneno sêco por quilo de pêso corporal.

No segundo grupo, empregamos 7 cães machos cujo pêso corporal variou de 7 a 13 quilos. A quantidade de veneno crotálico sêco foi de 0,5 mg a 2,0 mg por quilo de pêso corporal. O veneno sêco foi antes dissolvido, em solução fisiológica, na proporção de 1 ml a 2 ml por quilo de pêso corporal. Foi administrado o veneno por uma única vez por injeção subcutânea com a exceção do cão n.º 14 que recebeu 2 injeções de 1,5 mg de veneno sêco por quilo de pêso corporal. A capacidade de neutralização do antiveneno variou para 1 ml de sôro de 0,5 mg a 2,0 mg de veneno sêco de cascavel, *in vitro*. O antiveneno foi administrado de um mínimo de 2 horas (cães n.º 12 e n.º 13) até um máximo de 24 horas e meia (cães n.º 7 e n.º 8) depois da inoculação do veneno.

Resultados

Os animais dos dois grupos, logo depois da intoxicação apresentaram, ptialismo intenso, incoordenação dos movimentos, apatia, mostrando-se freqüentemente cambaleantes. Havia midríase acentuada e tremores musculares. A prostração, em alguns era marcada, chegando no fim a uma paralisia intensa, não se mantendo mais em pé, ficando sempre em decúbito lateral. No início, a respiração era torácica, depois se tornava mista e finalmente só abdominal, com intensa taquipnéa.

No início da experiência, a urina era de aspecto normal, amarelo citrino, depois passava a vermelho, marron esverdeado ou vermelho-castanho, sendo positiva à reação de benzidina. Tornava-se depois clara quando o animal se recuperava, dando então a prova de benzidina negativa. A tonalidade marron esverdeada da urina, vermelha castanha ou simplesmente vermelha escura, coincidia pois com a presença de hemoglobina livre, havendo sòmente duas exceções que embora tivessem aspecto normal deram uma reação de benzidina com intensidade fraca. Várias vêzes foi observado um aspecto oleoso da urina que correspondia a um conteúdo hemoglobinúrico positivo. As tonalidades da côr da urina acima enumeradas não estão em relação com a presença de hemácias, porquanto a pesquisa destas foi sempre negativa no sedimento urinário e também ao exame histológico, no interior dos tubulos uriníferos, isto é, a pré-urina, tanto glomerular como prétubular.

Os resultados do grupo I estão expostos no quadro n.º 1, onde podem ser vistos em detalhe. A duração da observação dos 8 cães injetados com veneno de cascavel foi de um mínimo de 7 horas (cão n.º 3) a um máximo de 9 dias e 4 horas (cão n.º 9). Seis animais morreram pelo envenenamento crotálico e o cão n.º 9 foi sacrificado com éter anestésico. O animal n.º 6 recuperou-se completamente, não tendo sido autopsiado, tendo contudo apresentado uma reação de Lepehne positiva. Houve anúria em um caso que foi o cão n.º 5. A oligúria apresentou-se em 3 animais (cães n.ºs 1, 3 e 4). Não houve caso de hematúria, sendo a pesquisa de hemácias sempre negativa, no sedimento urinário. Por outro lado, dos 8 animais do grupo I, injetado com veneno, 7 cães apresentaram ou a hemoglobinúria evidenciada pela reação de Lepehne ou a presença de cilíndros de hemoglobina ou de seus derivados, no interior dos tubulos uriníferos ao exame histopatológico. A presença de cilíndros de hemoglobina, no interior dos tubulos uriníferos, em cortes histológicos de rim, foi positivada em 5 animais (n.ºs 1, 2, 3, 9 e 10). A hemoglobinúria foi positivada pela reação de benzidina, segundo Lepehne em 6 cães (n.ºs 1, 2, 4, 6, 9 e 10) de um total de 8 animais do grupo I. É interessante notar que o cão n.º 6, nove horas depois da inoculação de veneno, apresentava uma reação de benzidina positiva que ainda foi positiva 22 horas depois da inoculação. Após o 4.º dia, o cão n.º 6 melhorou consideràvelmente, com a sua recuperação completa, tornando-se então negativa a reação de benzidina.

Os resultados do grupo II que foi injetado com veneno de cascavel e depois, tratado com antiveneno crotálico, encontram-se em detalhe no quadro n.º 2. Os cães n.ºs 7, 8 e 13 foram tratados uma vez com antiveneno crotálico e os cães n.ºs 11, 12 e 15 foram tratados 2 vêzes. Finalmente o cão n.º 14 recebeu 3 injeções subcutâneas de antiveneno crotálico depois da inoculação do veneno.

A duração da observação dos animais do grupo II foi de um mínimo de 8 horas (cão n.º 11) até um máximo de 8 dias e 7 horas (cão n.º 14) depois da primeira inoculação de veneno. 3 animais morreram pelo envenenamento (11, 13 e 15). Os cães n.ºs 7, 8 e 14 foram sacrificados com éter anestésico. Não foi encontrada anúria nos cães do grupo II. Houve oligúria em dois casos (7 e 11). A hematúria não foi encontrada, nos animais do grupo II, tendo sido sempre negativa a pesquisa de hemácias, no sedimento urinário. Entretanto a reação de benzidina segundo Lepehne foi positiva em seis animais de um total de 7 cães do grupo II. Os cães 11 e 13 além da hemoglobinúria, apresentaram cilíndros de hemoglobina no interior dos tubulos uriníferos, em cortes histológicos de rim ao exame microscópico. No cão n.º 12, a reação de benzidina foi positiva seis horas depois da injeção de veneno, mostrando-se ainda positiva no 2.º dia

QUADRO SINÓTICO I — EFEITO DA INJEÇÃO SUBCUTANEA DE VENENO DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* NO RIM DO CÃO

Número de ordem	Número do cão	Peso corporal em kg	Duração da observação	Número de injeções	Quantidade de veneno seco mg/kg de peso corporal	Quantidade total de veneno seco em mg	Volume de solução fisiológica em ml	Anúria	Oliguria	Hematuria	Hemoglobinuria	Cilindros de hemoglobina em cortes histológicos	Observações
1	1 ♂	12,5	9 hrs. +	1	2,0	25,0	12,5	—	+	—	++	++	+ Morte pelo envenenamento crotálico
2	2 ♀	6,0	28 hrs. +	1	2,0	12,0	6,0	—	—	—	++	+	+ Morte pelo envenenamento crotálico
3	3 ♂	12,5	7 hrs. +	1	1,0	12,5	12,5	—	+	—	—	+	+ Morte pelo envenenamento crotálico
4	4 ♂	13,5	17 hrs. +	1	1,0	13,5	13,5	—	+	—	+	—	+ Morte pelo envenenamento crotálico
5	5 ♂	9,0	11 ½ hrs. +	1	0,5	4,5	4,5	+	—	—	—	—	+ Morte pelo envenenamento crotálico
6	6 ♂	8,0	4 dias *	1	0,5	4,0	4,0	—	—	—	+	*	* Recuperado. Não foi autopsiado.
7	9 ♂	14,0	1.º dia 4.º dia 6.º dia 9.º dia; 4 hrs. +	1 1 1 —	0,5 0,5 1,0 —	7,0 7,0 14,0 —	14,0 14,0 14,0 —	— — — —	— — — —	— — — —	— ++ ++ ++	+	+ Sacrificado com eter.
8	10 ♂	10,0	1.º dia 5.º dia 7.º dia 7.º dia; 20 hrs. +	1 1 1 —	0,5 0,5 1,0 —	5,0 5,0 10,0 —	10,0 10,0 10,0 —	— — — —	— — — —	— — — —	++ ++ + +	+	+ Morte pelo envenenamento crotálico

depois do tratamento com antiveneno. A reação de Lepehne permaneceu positiva até o 5.º dia, tornando-se negativa, no 6.º dia. O cão n.º 12, melhorou consideràvelmente, não tendo sido autopsiado.

A — Exame macroscópico

Foi realizado o estudo anatomopatológico de 13 cães autopsiados, sendo 7 do total de 8 animais do grupo I injetado com veneno e 6 cães de um total de 7 animais do grupo II, tratado com veneno e depois com antiveneno. Apresentamos, ao mesmo tempo, os resultados dos exames anatomopatológicos dos dois grupos pelo fato dos resultados serem análogos.

Macroscòpicamente, os nossos achados confirmam de modo geral, as observações feitas antes por outros autores, sôbre a ausência de alterações dignas de nota nos orgãos em geral, em contraste com as produzidas com veneno botrópico (Schöttler, 1951 e Amorim, Mello e Saliba, 1951). Entretanto, devemos notar que em tôdas as experiências foi notada uma *côr vermelha escura do rim*, executando-se no cão n.º 15, no qual se notou uma côr castanha clara.

Além disso, em 8 animais foi expressamente marcada uma diferença de coloração vermelha entre a zona cortical e a medular, sendo mais escura na cortical e rosa palida ou vermelha clara na medular em 8 casos (cães n.os 1, 2, 3, 4 e 5 do grupo I e 7, 8, 11 do grupo II) em um total de 13 autopsias.

B — Exame histopatológico

Faremos adiante uma descrição do conjunto dos casos, salientando apenas aquêles em que certos detalhes ou lesões se apresentam com maior intensidade ou de um modo mais característico.

Na maioria dos casos, houve hiperemia, ora discreta, ora bem intensa (1, 2 e 5 do grupo I e 11 e 13 do grupo II), para o lado principalmente da zona limitante do rim e também dos glomérulos e capilares da zona labirintica do córtex. Pequenas hemorragias da zona intermediária, foram notadas sòmente nos cães 1 do grupo I e 13 do grupo II. Na *cavidade da cápsula* de Bowman e no lume dos tubulos contornados, havia na maioria dos casos, conteúdo albuminoso simples. Os ductos contornados de 1.ª ordem ou proximais, apresentavam freqüêntemente inchação turva nítida. A degeneração hidrópica dêsses tubulos a qual Bell (1950) chamou particularmente a atenção foi observada em 3 animais (n.os 2, 5 e 9 do grupo I). A degeneração vacuolar foi particularmente intensa no cão n.º 15 do grupo II, onde atingia os aspectos idênticos descritos pelo autor acima mencionado, porém, nêsse caso, a degeneração vacuolar existia exclusivamente na zona limitante do rim e nas pirâmides de Ferrein; além disso, não havia hemoglobinúria e nem cilíndros de *haeme*, nos cortes histológicos, tendo sido a duração da experiência de 9 horas. Nos cães n.os 2 e 9 do grupo I, havia uma degeneração vacuolar evidente, nas partes retas do nefron.

Nos segmentos ascendentes da alça de Henle, notamos freqüentemente a necrose e o desaparecimento das celulas da parede, com picnose nuclear.

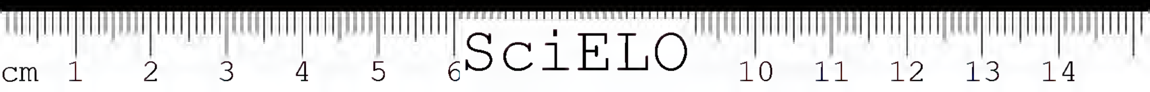
No cão n.º 9 do grupo I, havia além de forte inchação turva dos tubulos contornados, intensa vacuolização das celulas, principalmente das partes ascendentes das alças de Henle, com a formação de finos vacuolos, em vários trechos.

! NO RIM DO CÃO

N.º de ordem	N.º do cão	›i-	Cilindros de hemoglobina em cortes histológicos	Observações
1	7 ♂		—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno sêco, *in vitro*. + Sacrificado por inalação com eter.
2	8 ♂		—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno sêco, *in vitro*. + Sacrificado por inalação com eter.
3	11 ♂		+++	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno sêco, *in vitro*. + Morreu pelo envenenamento.
4	12 ♂			1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 0,5 mg de veneno sêco, *in vitro*. * Recuperou. Não foi autopsiado.
5	13 ♂		+++	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 2,0 mg de veneno sêco, *in vitro*. + Morreu pelo envenenamento.
6	14 ♂		—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 2,0 mg de veneno sêco, *in vitro*. + Sacrificado por inalação com eter.
7	15 ♂		—	1 ml de antiveneno crotálico neutraliza 2,0 mg de veneno sêco, *in vitro*. + Morreu pelo envenenamento.

QUADRO SINÓTICO II — EFEITO DA INJEÇÃO SUBCUTÂNEA DE VENENO E ANTIVENENO DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* NO RIM DO CÃO

N.º de ordem	N.º do cão	Pêso corporal em kg	Curso da observação		Número de injeções	Quantidade de veneno seco mg/kg de pêso corporal	Quantidade total de veneno sêco em mg	Volume de solução fisiol. em ml	Quant. total de antiveneno crotálico em ml	Anúria	Oliguria	Hematúria	Hemoglobinúria	Cilindros de hemoglobina em cortes histológicos	Observações
1	7 ♂	12,0	1.º	11,½	1	0,50	6,0	12,0							1 ml de antiveneno crotálico neu-
			2.º	12	1				12,0	—	+	—	+ + +		traliza 0,5 mg de veneno sêco, *in*
			3.º	8						—	—	—	+ +		*vitro.*
			4.º	8						—	—	—	—		
			8.º	10 +						—	—	—	—	—	+ Sacrificado por inalação com eter.
2	8 ♂	9,0	1.º	11,½	1	0,50	4,5	9,0	9,0	—	—	—	+ + +		1 ml de antiveneno crotálico neu-
			2.º	12	1					—	—	—	+ +		traliza 0,5 mg de veneno sêco, *in*
			3.º	8						—	—	—	—		*vitro.*
			6.º	9						—	—	—	—		
			8.º	10 +										—	+ Sacrificado por inalação com eter.
3	11 ♂	7,5	1.º	10	1	2,00	15,0	15,0							1 ml de antiveneno crotálico neu- traliza 0,5 mg de veneno sêco, *in*
			1.º	15,½	1				20,0	—	+	—	+		*vitro.*
			1.º	17	1				10,0						
			1.º	18 +						—	+	—	+	+ + +	+ Morreu pelo envenenamento.
4	12 ♂	7,0	1.º	9	1	2,00	14,0	14,0							1 ml de antiveneno crotálico neu-
			1.º	11	1				10,0						traliza 0,5 mg de veneno sêco, *in*
			1.º	15						—	—	—	+ + +		*vitro.*
			2.º	11					5,0	—	—	—	+ + +		
			4.º	13						—	—	—	+ +		
			5.º	15						—	—	—	+		
			6.º	10 *						—	—	—	—		* Recuperou. Não foi autopsiado.
5	13 ♂	8,0	1.º	9	1	1,87	15,0	15,0							1 ml de antiveneno crotálico neu-
			1.º	11	1				10,0						traliza 2,0 mg de veneno sêco, *in*
			1.º	21						—	—	—	+ + +		*vitro.*
			2.º	13						—	—	—	+ + +		
			3.º	11 +						—	—	—	+ + +	+ + +	+ Morreu pelo envenenamento.
6	14 ♂	10,0	1.º	9	1	1,50	15,0	15,0							1 ml de antiveneno crotálico neu-
			1.º	12	1				10,0						traliza 2,0 mg de veneno sêco, *in*
			1.º	15	1				10,0	—	—	—	—		*vitro.*
			2.º	16	1				10,0	—	—	—	+		
			3.º	21						—	—	—	+		
			4.º	9						—	—	—	+ + +		
			7.º	9	1	1,50	15,0	6,0		—	—	—	—		
			8.º	16 +						—	—	—	—	—	+ Sacrificado por inalação com eter.
7	15 ♂	10,5	1.º	9	1	1,57	16,5	16,5							1 ml de antiveneno crotálico neu-
			1.º	12	1				10,0	—	—	—	—		traliza 2,0 mg de veneno sêco, *in*
			1.º	15,½	1				10,0	—	—	—	—		*vitro.*
			1.º	18 +						—	—	—	—	—	+ Morreu pelo envenenamento.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14

Igualmente no cão n.º 13 do grupo II, nas partes ascendentes das alças de Henle e nos tubulos contornados de 2.ª ordem (nefron intermediário), as células mostravam degeneração vacuolar pela H. E. e gordurosa, nos preparados pelo *Escarlate R*, como se pode vêr na figura n.º 5, em corte transversal da zona limitante do rim. As células apresentavam cariolise e picnose nuclear, estando desaparecidas em vários trechos. Outras células estão fortemente tumefeitas com o núcleo em cariorrexis. Nítida degeneração granulo-hialina, principalmente nos tubos retos da zona limitante e nos tubos contornados de 2.ª ordem, em pleno córtex com vacuolização e desintegração das células, cujos contornos então desaparecem ou por vêzes se fundem com os cilindros granulosos contidos, no interior do lume.

As células da parte ascendente e descendente dos tubulos se mostram tumefeitas e degeneradas ao máximo, na zona limitante "*boundary zone*".

No cão n.º 14 do grupo II, na zona limitante e no início da medular, em certos trechos esparsos, nota-se a luz dos tubulos com intensa descamação celular de mistura com típicas plasmacelulas. As plasmacelulas se vêm também, no tecido intersticial em tôrno do tubulo, formando pequenas áreas de inflamação focal peritubular, reacional.

O animal n.º 15 do grupo II, mostrou nítida hiperemia do córtex e da zona intermediária, sendo a mesma discreta nos glomérulos. Havia uma intensa pielite, não se observando fócos de nefrite intersticial crônica. Notou-se uma forte degeneração hidrópica, formando ilhotas ou porções disseminadas pela zona limitante e em partes do córtex. A sua localização, às vêzes, é típica, nas pirâmides de Ferrein. As células, nêsses túbulos apresentam-se tumefeitas e fortemente vacuolizadas. Em cortes por congelação e corados pelo *Escarlate R*, nota-se que se trata de típica degeneração gordurosa, atingindo por assim dizer, quase que eletivamente, os túbulos retos da pirâmide de Ferrein ou *Pars radiata* do córtex e algumas partes da zona limitante ou justamedular do córtex. É notável assinalar que nêste caso, os túbulos de primeira ordem apresentavam sòmente a inchação turva, não havendo nêsses túbulos nem a degeneração vacuolar e nem a esteatose. Havia ausência de cilindros de hemoglobina, no interior dos túbulos, apresentando vários dêles, um conteúdo albuminoso.

Em relação aos *cilindros de hemoglobina* em cortes histológicos, pudemos precisar a sua presença com a estrutura típica, em quantidade relativamente abundante, fàcilmente identificável, mormente em 4 cães (1 e 10 do grupo I e 11 e 13 do grupo II) e menos intensa em 3 casos (2, 3 e 9 do grupo I). Dêsse modo, os cilindros de hemoglobina foram encontrados em cortes histológicos apenas em 7 casos de um total de 13 cães autopsiados, não significando que não tivessem apresentado uma simples hemoglobinúria.

Os cilindros de hemoglobina sempre se encontravam, nas partes retilíneas do nefron ou nos segmentos das alças de Henle e nos tubos contornados de segunda ordem. Em maior número, ou mais fáceis de serem identificados, eram vistos na zona limitante e justamedular do córtex, bem como na zona medular; em menor número e mais difíceis de serem pesquisados, em pleno córtex, na zona labirintica e nas proximidades dos glomérulos.

Entretanto, em um dos animais autopsiados (cão n.º 13 do grupo II), os *cilindros de hemoglobina* eram fàcilmente visíveis, mesmo em todo o córtex, desde o *Cortex corticis*, sob a cápsula, como bem o demonstram as microfotografias. Isso é visto, especialmente nos cortes histológicos preparados pelo método de

Mallory-Masson, onde os cilindros de hemoglobina atraem a atenção pela sua côr vermelha viva que os distingue da côr pálida ou ligeiramente azulada do simples conteúdo albuminoso, ou dos cilindros hialinos comuns que estão presentes em vários casos.

Pudemos verificar que a hemoglobinúria foi positiva em 12 casos (1, 2, 4, 6, 9 e 10 do grupo I e 7, 8, 11, 12, 13 e 14 do grupo II) de um total de 15 cães. Porém, no momento da autopsia, só 7 animais apresentaram hemoglobinúria (1, 2, 4, 9 e 10 do grupo I e 11 e 13 do grupo II), pois dois cães que estavam com hemoglobinúria, durante a observação, não foram autopsiados por se terem recuperado ao fim da experiência (cão n.º 6 do grupo I e n.º 12 do grupo II).

Em três cães (7, 8 e 14 do grupo II), na ocasião da autopsia, a reação da benzidina era negativa, pois êsses animais já tinham se recuperado, no fim da experiência. Mas mesmo assim, foram aproveitados para pesquisa, sendo autopsiados após anestesia pelo éter.

No cão n.º 11 do grupo II, houve aparentemente um resultado paradoxal, porquanto, nos cortes histológicos os cilindros de hemoglobina eram muito numerosos, na zona limitante e eram menos numerosos na zona medular, e bem menos freqüentes, na zona cortical. Apesar disso, a hemoglobinúria foi muito pouco intensa. Talvez êsse fato, nêsse particular possa ser explicado pela maior retenção de cilindros de hemoglobina nos túbulos.

Em seis animais (cães n.ºs 1, 2, 3, 9 e 10 do grupo I e 11 e 13 do grupo II), quando havia a presença de cilindros de hemoglobina, nos cortes histológicos ao exame microscópico, também havia hemoglobinúria, com uma única exceção (cão n.º 3 do grupo I).

Não foram encontrados glóbulos vermelhos, na urina ou no interior dos túbulos uriníferos ou na cavidade da cápsula de Bowman. Dêsse modo, não houve hematúria nos animais dos dois grupos investigados por nós, mas sòmente hemoglobinúria.

C — Resumo das lesões

As lesões histológicas do rim obtidas experimentalmente, nos dois grupos são idênticas e assim podem ser resumidas:

1) Ausência de lesões glomerulares, por vêzes apenas conteúdo albuminoso, na cavidade da cápsula de Bowman;

2) Ausência de isquemia no córtex, havendo por vêzes ligeira hiperemia, principalmente da zona labirintica do rim, e mais acentuada nos vasos retos da zona limitante do rim;

3) Ausência de lesões importantes dos túbulos contornados principais que mostravam apenas, por vêzes, degeneração vacuolar, inchação turva, conteúdo albuminoso no lume;

4) Presença de cilindros pigmentados de derivados de hemoglobina, principalmente nos tubos ascendentes da alça de Henle e tubos contornados distais (isto é, em todos os segmentos do nefron, classicamente designados como o *segmento intermediário de Schweigger-Seidel*) e nos tubos coletores da zona

radiada do córtex e da zona medular. Em alguns casos, os cilindros de hemoglobina ou de seus derivados podem ser encontrados desde o *Cortex corticis* sob a cápsula até a papila renal;

5) No *segmento intermediário* do túbulo urinífero, isto é, parte ascendente da alça de Henle e do túbulo contornado distal ou de segunda ordem, as lesões eram mais acentuadas, havendo não só inchação turva degeneração vacuolar e gordurosa, como também lesões nucleares (picnose e cariorrexis), terminando com o desaparecimento por necrobiose e descamação das células em largos trechos dêsses segmentos do nefron. Nêsses trechos, os cilindros de hemoglobina se apresentam em contacto com a *Lâmina própria* ou com o estroma conetivo do rim. Êste fato foi observado, constantemente, já em pleno córtex no ponto em que o segmento intermediário, voltando das irradiações da medular ou pirâmides de Ferrein se aproxima ou se justapõe aos glomérulos;

6) Todavia, as lesões mais intensas e numerosas se verificam na chamada *zona limitante* do rim, na passagem das partes retilíneas do túbulo para a zona medular, como foi assinalado clàssicamente na síndrome do nefron distal por vários autores, entre os quais Bywaters e Dible (1942), Ogilvie (1951) e por Amorim e Mello (1952-54) no homem afetando portanto, principalmente, as partes ascendentes da alça de Henle, isto é, o chamado segmento intermediário do nefron;

7) Em alguns animais, nota-se a presença de pequenos focos inflamatórios reacionais ou secundários, constituidos ora por granulócitos neutrófilos, ora por plasmacélulas, em tôrno de túbulos cujas células haviam desaparecido, em contato com os cilindros de hemoglobina. Não chegamos a observar, porém, em nossos casos, nenhuma vez, a proliferação histiocitária de aspecto granulomatóide notada no homem por Amorim e Mello (1952-54), nem as lesões de esclerose ou tromboses venosas citadas por Ogilvie (1951), Bywaters e Dible (1942).

Discussão e considerações gerais

Flavio da Fonseca (1949) diz em seu livro, embora sem especificar a variedade de envenenamento a que se refere, que a albuminúria e a anúria seriam consecutivas à glomerulonefrites. Tal fato pode ser verdadeiro, nos casos em que se trate de envenenamento botrópico, se nos basearmos, nas observações de Mac Clure (1935-1946). Porém não é o caso, quando se trata de envenenamento crotálico, pois as nossas verificações experimentais demonstram que o mecanismo patogênico da albuminúria e da anúria deve depender com mais probabilidade de fenômenos degenerativos puros do parenquima renal. Na intoxicação por veneno crotálico, não encontramos sinais de glomerulonefrite, tanto no cão, como no homem (Amorim e Mello, 1952-54).

Nunca notamos a presença de cilindros típicos de hemoglobina, nos túbulos contornados de primeira ordem. Em relação à localização típica dos cilindros de hemoglobina, nos túbulos contornados de segunda ordem (segmento intermediário), o caso do cão n.º 13 (grupo II), é particularmente demonstrativo, indicando tal localização e não deixando qualquer dúvida sôbre a sua presença no *Cortex corticis*, bem sob a cápsula renal, como é visto nas ilustrações. Não sòmente a estrutura das células dos túbulos, como também a sua colocação extrema provam de modo irrefutável não se tratar do tubo coletor de Bellini, duvida que poderia

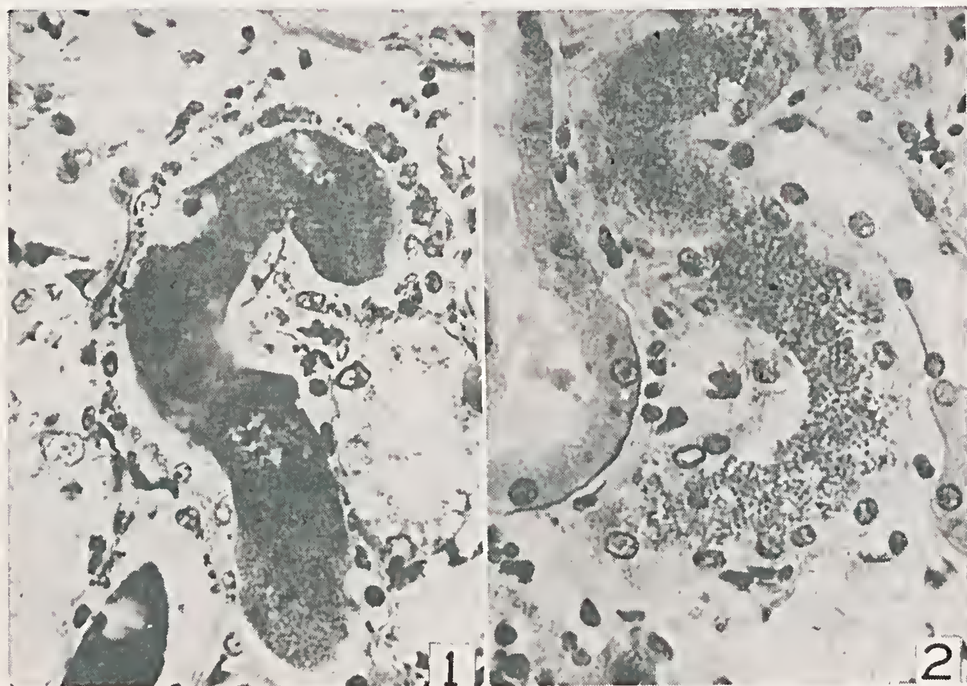


Fig. 1 — Por baixo da cápsula renal, vê-se em grande aumento um cilindro de hemoglobinia, metade hialino, metade granuloso com a conhecida estrutura típica dos cilindros de hemoglobina. Nota-se o epitelio de revestimento cubico baixo em quase tôda extensão da parede do segmento intermediário que contém o cilindro de hemoglobina em seu interior. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pelo método de Mallory-Masson. Microfotografia x 420.

Fig. 2 — Cilindro granuloso de hemoglobina em grande aumento visto no interior de um tubulo contornado de segunda ordem, cujas células estão com inchação turva com alguns núcleos em picnose. Ao lado esquerdo, vê-se um túbulo contornado proximal. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 420.

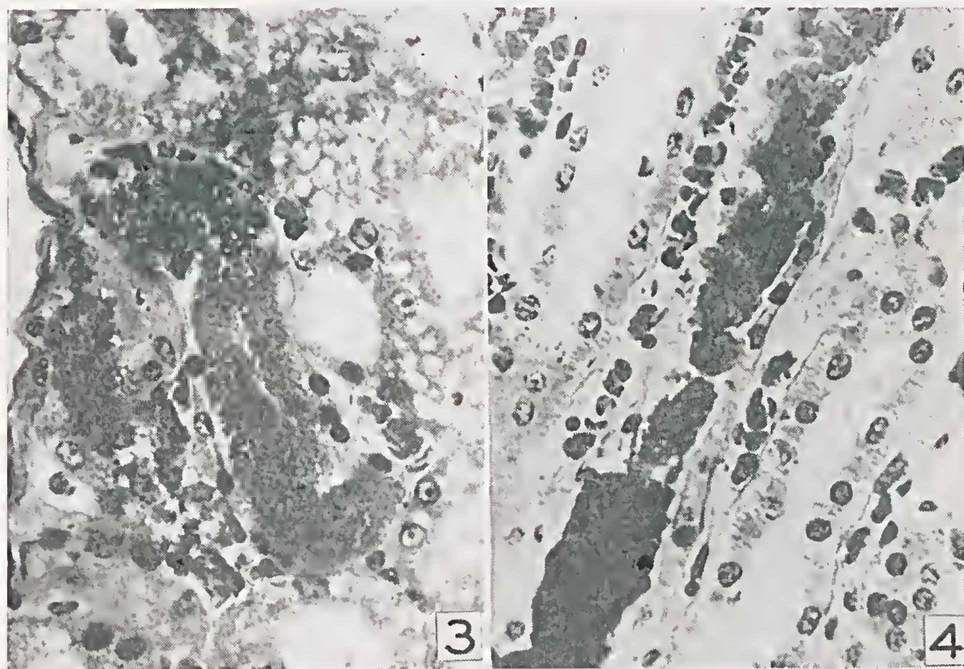


Fig. 3 — Sob a cápsula aparecem dois cilindros de hemoglobina, finamente granulosos, no interior de segmentos contornados de segunda ordem, cujo epitélio de revestimento baixo é visível no túbulo do centro. Túbulos contornados proximais com degeneração hidrópica microvacuolar. Notar a diferença em contraste com os eritrócitos dos capilares visinhos. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pelo Mallory-Masson. Microfotografia x 386.

Fig. 4 — Volumoso cilindro granuloso de hemoglobina em partes da alça de Henle. Corte longitudinal, passando pela zona limitante do rim. O epitelio cúbico baixo da parede do túbulo ainda se encontra relativamente bem conservado. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 420.

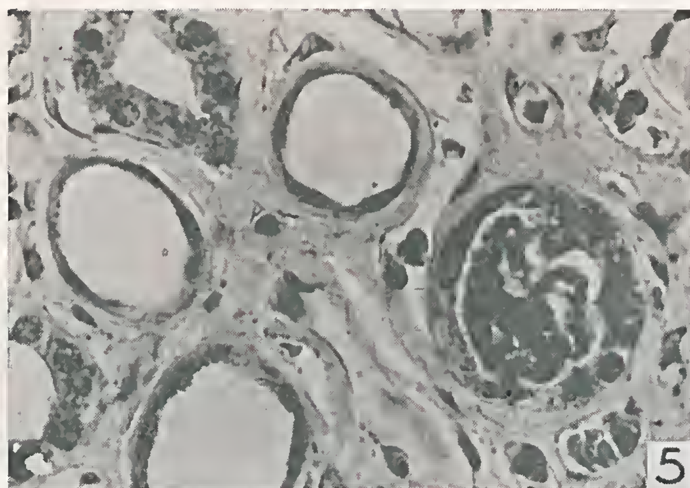


Fig. 5 — Corte transversal da zona limitante do rim, mostrando três cortes da parte ascendente da alça de Henle com os lumes vasios, revestidos por epitelio baixo achatado. Notar as diferenças com alguns capilares sangüíneos menores, irregulares, visiveis na figura. Em cima, um corte da parte ascendente da alça de Henle, contendo em seu interior, partes de um cilindro granuloso de hemoglobina. Cão n.º 13. Fixação pelo Formol. Coloração pelo Escarlate R. Microfotografia x 420.

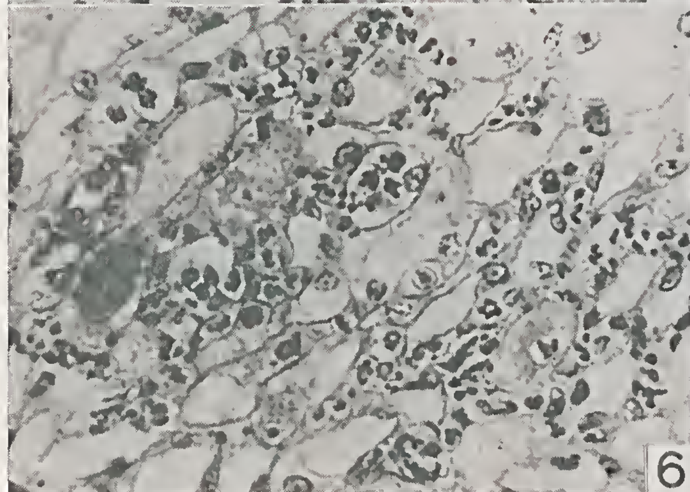


Fig. 6 — Zona medular do rim, mostrando pequenos focos de infiltração inflamatória de caráter exsudativo agudo por granulocitos neutrófilos. Cão n.º 9. Fixação pelo liquido de Bouin. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 380.

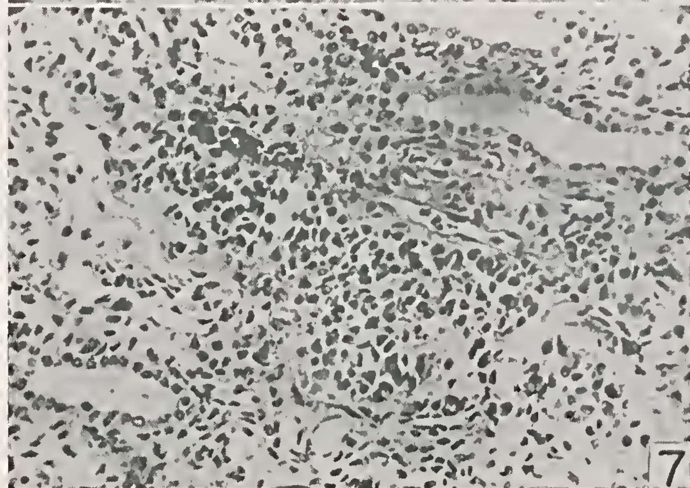


Fig. 7 Zona medular do rim, próxima da zona limitante, mostrando vários focos inflamatórios, constituidos principalmente por linfócitos e plasmacelulas, próximos de alguns túbulos em parte cheios de células descamadas. Cão n.º 14. Fixação pelo Formol. Coloração pela Hematoxilina e Eosina. Microfotografia x 200.

surgir ao interpretar essas lesões na zona limitante do rim ("*boundary zone*"). Ora, em tal posição extrema do córtex, não se encontram, como é sabido, partes do tubo coletor de Bellini. Êsse fato dá maior apoio à interpretação de que as imagens idênticas vistas nos túbulos da zona limitante do córtex sejam realmente referentes à parte ascendente do segmento intermediário, nada tendo que vêr com o tubo coletor.

Não constatamos a presença de hemácias no interior de qualquer segmento do nefron. Êsse fato viria provar que a reação da benzidina quando positiva é causada pela hemoglobinúria existente e não por uma possível hematúria, objeção que poderia surgir. Em realidade, o que existe é uma hemoglobinúria pura, não havendo indício algum de hematúria, como pode ser visto nos resultados dos exames anatomopatológicos e nos dados dos quadros sinóticos.

Verificamos em nossas experiências um fato de sumo interêsse sôbre a capacidade de recuperação do tecido renal. Existiria um paralelismo entre a recuperação fisiológica e a recuperação histológica do parenquima renal. Quando há melhora clínica do animal, haveria também uma concordância com a diminuição e o desaparecimento dos cilindros de hemoglobina aos cortes histológicos do rim. Mas quando sucede o contrário, como ocorreu no cão n.° 13 (grupo II) que apresentou uma hemoglobinúria intensíssima, desde o 1.° dia até a morte, os cilindros de hemoglobina se tornam mais numerosos, com um quadro histopatológico de nefrose mais rico em cilindros de hemoglobina nos cortes histológicos. Assim é muito interessante notar que Rosenfeld (1963-68) demonstrou a metahemoglobinúria em casos clínicos de pessoas picadas por cascavel. Observou que a metahemoglobinúria se tornava cada vez mais intensa com o agravamento do estado dos pacientes, aparecendo depois a oligúria e em um grau extremo sobrevindo a anúria.

Não pudemos observar em nossas experiências, os graves fenômenos de protrusão dos cilindros de hemoglobina para fora dos túbulos uriníferos, como foi tão bem descrito por Ogilvie (1951), quando chegam a lesar a parede das veias proximais, causando tromboses. Entretanto, como bem o demonstram algumas das nossas figuras, vários trechos onde as células de revestimento dos túbulos desapareceram, os cilindros de hemoglobina chegam realmente a aflorar e a entrar em contato com a membrana basal do túbulo urinífero, como foi descrito por Ogilvie.

Hadler e O. Vital Brazil (1966) fizeram o estudo histopatológico do rim de cães tratados com crotoxina, não empregando o veneno crotálico sêco, como nós. Referem não ter encontrado as mesmas lesões. Contudo, citam Rodrigues Lima (1966) que em casos humanos de picados por cascavel salienta a presença de lesões degenerativas nos túbulos proximais, mas não deixa de acentuar a existência de *lesões necróticas* muito mais graves no "segmento distal", o que portanto não vem senão confirmar os nossos achados. Êsses fatos seriam mais uma demonstração das diferenças de ação da crotoxina e do veneno crotálico.

Em nossas investigações experimentais, não pudemos reproduzir no cão, as lesões renais descritas por Amorim e Mello (1952-54), no homem, no qual encontraram um processo inflamatório reacional, secundário, intenso. Sòmente dois cães, n.° 9 do grupo I e o n.° 14 do grupo II, apresentaram fenômenos discretos de inflamação reacional, caracterizado, no primeiro por pequenos aglomerados de granulocitos neutrófilos e no segundo, por plasmacélulas, em tôrno dos túbulos uriníferos da zona limitante. No cão, a ausência de um processo reacional secundário

talvez possa ser explicada pela duração menor da sobrevida do animal, reforçando dêsse modo a conclusão sôbre a natureza "sintomática" ou reacional, secundária dêsse processo inflamatório, na realidade *post-nefrótico*. Êsse fato constituiria uma demonstração experimental da tese defendida por Amorim e Mello (1952-54), como também do conceito primordial e básico de inflamação sintomática, emitido por Spielmeyer (1922).

Resumo

Foi obtida em cães, com relativa constância uma nefrose do tipo da nefrose hemoglobinúrica (Mallory, 1947) também denominada como, nefrose do nefron intermediário (Amorim e Mello, 1952-54, Raab e Kaiser, 1966), reproduzindo-se experimentalmente essa síndrome, tanto sob o ponto de vista clínico, como também histopatológico.

No envenenamento crotálico experimental, no cão, existe uma hemoglobinúria relativamente constante. Nunca encontramos hematúria, pelo menos no cão. Não existem hemácias na urina, como também, no interior dos túbulos renais e na cavidade da cápsula de Bowman. Assim, é acentuado o fato da presença de hemoglobina livre, na urina, e a ausência da eritrocitose. A duração da observação variou de 7 horas até 9 dias e quatro horas.

As lesões histopatológicas se superpõem exatamente àquelas, prèviamente descritas no homem (Amorim e Mello, 1952-54), caracterizadas por lesões degenerativas necrobióticas do chamado segmento "intermediário" do nefron, isto é a parte ascendente da alça de Henle e o túbulo contornado de segunda ordem e também pela presença de cilindros de hemoglobina no lume do mesmo, dando uma *reação de Lepehne positiva*.

O veneno crotálico vem fornecer um meio fácil para induzir a nefrose do nefron intermediário cuja reprodução foi julgada difícil por vários investigadores (Yuile, Gold e Hinds, 1945), sendo necessários sempre dois fatôres lesionais coadjuvantes simultâneos.

As pesquisas feitas permitem a conclusão de que o veneno crotálico por si só deve induzir não só a ação hemolítica necessária, como também uma "ação nefrotóxica", preenchendo assim a qualidade de efeito simultâneo reconhecida, como indispensável (Yorke e Nauss, 1911-12, Baker e Dodds, 1925) para a indução da nefrose hemoglobinúrica experimental.

Summary

Hemoglobinuric nephrosis (Mallory, 1947) also designated as nephrosis of the intermediate nephron (Amorim and Mello, 1952-54), was obtained in dogs with relative constancy, this syndrome having been reproduced experimentally both from the clinical as well as from the histopathological point of view.

The presence of free hemoglobin in the urine is stressed, which until now has not been described in literature on either human or experimental crotalic poisoning, as well as the absence of erythrocytosis in the urine. The duration of the observation varied from 7 hours to 9 days and 4 hours. The histopathological lesions superpose themselves upon those described in man (Amorim e Mello, 1952-54) characterized by degenerative necrobiotic lesions of the segment of the nephron denominated as "Intermediate" and by the presence of hemoglobin casts in its lumen, producing a *positive Lepehne test*.

Crotalic venom (*C. d. terrificus*) provides an easy way to induce nephrosis of the intermediate nephron whose experimental reproduction was considered difficult by various authors (Yuile, Gold and Hinds, 1945) since there always existed the necessity of two simultaneous lesional factors.

These investigations permit the conclusion that crotalic venom (*C. d. terrificus*), besides inducing a hemolytic action also possesses a "nephrotoxic action" thus fulfilling the condition of duality of effects already to be indispensable (Yorke and Nauss, 1911-12 and Baker and Dodds, 1925) to the induction of experimental hemoglobinuric nephrosis.

Agradecimentos — Consignamos, aqui os nossos melhores agradecimentos à Sra. Vera Mondim Weizz, técnica do Instituto Butantan pelo grande auxílio prestado, tanto na parte técnica, como na parte dactilográfica do trabalho; ao Sr. A. Seixas, fotomicrógrafo do Instituto Butantan pela cópia de filmes e pelas ampliações dos mesmos; a Srta. Dolores Alvarez do Departamento de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina pela complementação de técnicas especiais, entre outras, a reação da oxídase.

À Sra. Lucília Maia Amorim pela colaboração contínua e inestimável, na redação e na revisão do texto e à Sra. Charlotte Franco de Mello pelas numerosas traduções e versões feitas.

Bibliografia

1. *Amorim, M. F., Mello, R. F. e Saliba, F.* — Envenenamento Botrópico e Crotálico. Contribuição para o estudo experimental comparado das lesões. *Memórias do Instituto Butantan,* 23:63-108, 1951.

2. *Amorim, M. F., Mello, R. F.* — Nefrose do Nefron Intermediário no Envenenamento Crotálico Humano. Estudo Anatomopatológico. *Memórias do Instituto Butantan,* 24:281-316, 1952.

3. *Amorim, M. F., Mello, R. F.* — Intermediate Nephron Nephrosis from Snake Poisoning in Man. Histopathological Study. *The American Journal of Pathology,* 30:479-499, 1954.

4. *Amorim, M. F., Mello, R. F. e Saliba, F.* — Intermediate Nephron Nephrosis experimentally induced with *Crotalus d. terrificus* venom in the dog. *Revista Brasileira de Biologia,* 20:359-364, 1960. Rio de Janeiro.

5. *Amorim, M. F., Mello, R. F. e Saliba, F.* — Intermediate Nephron Nephrosis induced in the dog with crotalic Venom. Anatomopathological Study. *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie,* 75:87-99, 1966.

6. *Anderson, W. A. D., Morrison, D. B.* and *Williams, E. F.* — Pathologic Changes following Injections of Ferrihemate (Hematin) in Dogs. *Archives of Pathology,* 33:589-602, 1942.

7. *Baker , S. L.* and *Dodds, E. C.* — Obstruction of the Renal Tubules during the Excretion of Haemoglobin. *The British Journal Of Experimental Pathology,* 6:247-260, 1925.

8. *Bell, E. T.* — Renal Diseases, 2nd edition, 285-287, 1960. *Philadelphia, Lea & Febiger.*

9. *Bing, R. J.* — Etiology of Renal Failure following Crush Injuries. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine,* 53:29-30, 1943.

10. *Bing, R. J.* — The Effect of Haemoglobin and Related Pigments on Renal Functions of the Normal and Acidotic Dog. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital,* 74:161-176, 1944.

11. *Braus, H.* — *Anatomie des Menschen; ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte,* 2:351, 1921-24, Julius Springer, Berlin.

12. *Bull, G. M. and Dible, J. H.* — Renal Function, In Recent Advances in Pathology, 6th edition, 273-308, 1953. *Edited by G. Hadfield, J. & Churchill, A., Ltd.,* London.

13. *Bywaters, E. G. L. and Dible, J. H.* — The Renal Lesion in Traumatic Anuria. *The Jornal of Pathology and Bacteriology,* 54:111-120, 1942.

14. *Bywaters, E. G. L. and Stead, J. K.* — The Production of Renal Failure Following Injections of Solutions Containing Myohaemoglobin. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences,* 33:53-70, 1946.

15. *Costa, A. C. da e Chaves, P. R.* — Tratado Elementar de Histologia e Anatomia Microscópica, 2:298-304, 1944, Livraria Luso-Espanhola Ltda., Lisboa.

16. *DeGowin, E. L., Osterhagen, H. F. and Andersch, M.* — Renal Insufficiency from Blood Transfusion. I — Relation to Urinary Acidity. *Archives of Internal Medicine,* 59:432-444, 1937.

17. *DeGowin, E. L., Warner, E. D. and Randall, W. L.* — Renal Insufficiency from Blood Transfusion. II — Anatomic Changes in Man compared with those in Dogs with experimental Haemoglobinuria. *Archives of Experimental Medicine,* 61:609-630, 1938.

18. *Diseombe, G.* — The Natural History and Management of Haemolytic Transfusion Reactions. *The Lancet,* 2:936-939, 1954.

19. *Fonseca, Flavio da,* — Animais Peçonhentos, 1-376, 1949. *Instituto Butantan, São Paulo.*

20. *Hadler, W. A. and O. Vital Brazil* — Pharmacology of Crystalline Crotoxin. IV Nephrotoxicity. Simpósio Internacional sôbre Venenos Animais, *Memórias do Instituto Butantan,* 33, fasc. 3:1001-1008, 1966.

21. *Hamburger, J.* — Acquisitions Recentes sur les Maladies du Rein en les Acquisitions Medicales Recentes. *Edit. Med. Flammarion,* 1948, Paris.

22. *Hamburger, J.* — Acquisitions Recents sur Les Nephrites aigue Toxiques en les Acquisitions Medicales Recentes. *Edit. Med. Flammarion,* 1950, Paris.

23. *Hawk, P. B., Oser, B. L. and Summerson, W. H.* — Practical Physiological Chemistry, 12th edition, 437-438, 1953. *The Blakiston Company,* New York.

24. *Huth, F. und MacClure, E.* — Morphologische Veränderungen der Nieren von Kaninchen nach Injektion von Schlangengift (*Bothrops jararaca*). *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie,* 74:91-108, 1964.

25. *Kaufmann, E.* — Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, 2:543-550, 1957. W. Gruyter 7 Co. Berlin W 35.

26. *Lalich, J. J.* — Effect of Inorganic Phosphate on Development of Hemoglobinuric Nephrosis in Rabbits. *Archives of Pathology,* 57:36-43, 1954.

27. *Lepehne, G.* — Zerfall der roten Blutkörperchen beim Ikterus Infectiosus (Weil). Ein Weiterer Beitrag zur Frage des hämatogenen Ikterus des Hämoglobin- und Eisenstoffwechsels. *Beitr. z Path. Anat. u.z. Allg. Path.,* 65:163-226, 1919.

28. *Lucké, B.* — Lower Nephron Nephrosis (the renal lesions of the crush syndrome, of burns, transfusions and other conditions affecting the lower segments of the nephrons). *Mil. Surgeon,* 99:371396, 1946.

29. *MacClure, E.* — Glomerulonephrite agúda difusa, conseqüênte a envenenamento por cobra (*Bothrops jararacussú*). *Boletim da Secr. Saúde e Assistência,* 1:35, 1935. Rio de Janeiro.

30. *MacClure, E.* — Glomerulonephrite Aguda Difusa, 1946, Rio de Janeiro.

31. *Meessen, H.* — Experimentelle Histopathologie, 1:104-105, 1952. G. Thieme, Stuttgart.

32. *Mallory, T. B.* — Hemoglobinuric Nephrosis in Traumatic Shock. *American Journal of Clinical Pathology,* 17:427-443, 1947.

33. *Minami, S.* — Über Nierenveränderungen nach Verschüttung. *Virchows Arch. f. path. Anat.*, 245:247-267, 1923.

34. *Ogilvie, R. P.* — Pathological Histology, 4th edition, 303-308, 1951, *Linngstone, E & S., Ltd.*, Edinburgh.

35. *Pearce, R. M.* — An Experimental Glomerular Lesion by Venom (*Crotalus adamanteus*). *Journal of Experimental Medicine,* 11:532-540, 1909.

36. *Raab, W. and Kaiser, E.* — Néphrotoxic Action of Snake Venoms. *Simpósio Internacional Sôbre Venenos Animais, Memórias do Instituto Butantan,* 33, fasc. 3:1017-1020, 1966.

37. *Rodrigues Lima, J. P.* — Necrose Tubular Aguda por Mordedura de Animais Peçonhentos. Tese, 1966, São Paulo.

38. *Romeis, B.* — *Guia-Formulário de Técnica Histológica,* 1:320-321, 1936. Editorial Labor S.A. Barcelona.

39. *Rosenfeld, G., Nahas, L. and Kelen, E. M. A.* — Coagulant, Proteolytic and Hemolytic Properties of Some Snake Venoms. In Venomous Animals and Their Venoms, 1:217-273, 1968. Edited by W. Bücherl, E. Buckley and V. Deulofeu. *Academic Press,* New York.

40. *Rosenfeld, G.* — Unfälle durch Giftschlangen. Behring Mitteilungen, begründet von E.v. Behring, 1:161-202, 1963, *N. G. Elwert Universität — und Verlags* — Buchhandlung. Marburg/Lahn.

41. *Rosenfeld, G.* — Malattie da Veleni Animali. In Trattato Italiano di Medicina Interna, diretto dal Prof. Paolo Introzi, Clinico Medico dell Universitá de Pavia. Estrato dala parte XI, 505-522, 1966. *Sadea Sansoni Editori* — Firenza — Roma.

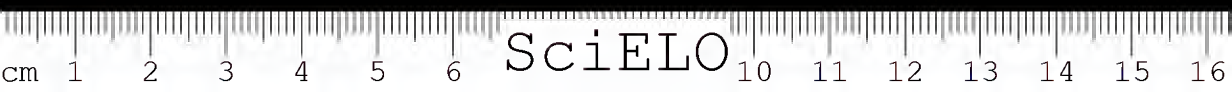
42. *Roulet, F.* — Methoden der Pathologischen Histologie, 1:242-243, 1948. Wien, Springer Verlag.

43. *Schöttler, W. H. A.* — Toxicity of the Principal Snake Venoms of Brazil. *The Journal of Tropical Medicine,* 31:389-499, 1951.

44. *Spielmeyer, W.* — Histopathologie des Nervensystems. Julius Springer, Berlin, 1922.

45. *Yorke, W. and Nauss, R. W.* — The mechanism of the Production of Suppression of Urine in Blackwater Fever.. *Annals of Tropical Medicine und Parasitoloy,* 5:287-312, 1911.

46. *Yuile, C. L., Gold, M. A. and Hinds, E. G.* — Hemoglobin Precipitation in Renal Tubules. A Study of its Causes and Effects. *The Journal of Experimental Medicine,* 82:361-374, 1945.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

INCIDÊNCIA E COMPROMETIMENTO CARDÍACO PELA GÔTA ÚRICA EM CROTALUS D. TERRIFICUS

JESUS CARLOS MACHADO

Laboratório de Anatomia Patológica, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Ao iniciarmos êste relato julgamos oportuno transcrever as palavras de Appleby e Siller, 1960 (1); "apesar da Gôta Úrica ser familiar aos patologistas que estudam tais animais — no caso os répteis — as publicações sôbre ela são poucas e superficiais".

A Gôta Úrica deve-se à deposição patológica de sais de ácido úrico (biuratos de sódio) em diversos locais do organismo animal. No homem, segundo Willis (11), Gierke (5) e Collins (4) são comprometidos pela ordem: cartilagem articular, membrana sinovial, tecidos peri-articulares, cartilagem da orelha, rim, fígado e pericárdio. No que diz respeito ao miocárdio e endocárdio, encontramos referido no trabalho de Lichtenstein, Scott e Sevin (7) à respeito de 11 necroscopias, que é extremamente raro não sendo mesmo notado em seus casos. Bunin e McEwen (3) descreveram por sua vez, deposição de uratos comprometendo a valva posterior da válvula mitral com prolongamento, pelo endocárdio e miocárdio, atingindo 4 cm de comprimento por 0,5 cm de diâmetro. Pund e colaboradores (8), revendo a literatura, encontraram sòmente 11 casos de comprometimento cardíaco publicados. No caso publicado, o nódulo gotoso encontrava-se na base da válvula mitral ao longo da artéria coronária circunflexa esquerda.

Nos animais, a Gôta Úrica é também relativamente freqüente, principalmente nas aves e répteis, quando em cativeiro. Appleby e Siller (1), relatam 9 casos de Gôta Úrica em répteis. Siller (9) em extenso e minucioso trabalho descreve-a nas aves. demonstrando, que a deposição dos uratos se processa nos mesmos locais que no homem. Quanto ao coração, relata que o seu diagnóstico pode ser feito mais precocemente, pois a deposição forma inicialmente, delicadas estrias brancas tanto no epicárdio como na gordura da região coronariana. Com o aumento da deposição, os uratos aparecem na parte visceral do pericárdio e comprometem o espaço pericárdico sob a forma de material branco semi-fluído. No miocárdio, a deposição apresenta-se de forma radial sem inflamação secundária ao derredor, nada relatando quanto ao endocárdio. Collins (4), analisa as diferenças metabólicas existentes entre as diferentes espécies animais e afirma: os porcos apresentam afecção semelhante à Gôta Úrica, sòmente que, os depósitos não são de urato, mas, sim, de guanina por não possuirem êstes animais, uma enzima — a guanase.

Belluomini e Hoge (2), isoladamente e, posteriormente com Soerensen e colaboradores (10), relataram, no Instituto Butantan, a presença de Gôta Úrica em

Recebido para publicação em 13 de setembro de 1966.

Crotalus d. terrificus mantidas em cativeiro. Mostraram que cêrca de 46% das 89 serpentes que morreram nos meses quentes de janeiro, fevereiro e março de 1965, apresentavam sinais dessa afecção e, sugeriram que a alta mortalidade talvez, se devesse à Gôta Úrica. Pessoalmente, H. Belluomini nos informou que em grande percentagem dos casos as deposições encontradas, por si só, não justificariam a morte. Daí, supusemos que deveriam existir outras lesões de verificação macroscópica mais difícil, em órgãos nobres, que pudessem explicar a "causa mortis" de bom número de serpentes. Assim, solicitamos e obtivemos dos Drs. H. Belluomini e R. Franco de Mello corações de *Crotalus d. terrificus* mortas espontâneamente no cativeiro com ou sem sinais evidentes de Gôta Úrica com a finalidade de estudá-las e verificar: existência, incidência e localização de possíveis depósitos de uratos.

Material e Métodos

Nosso material constou de 30 corações de *Crotalus d. terrificus* que morreram espontâneamente nos serpentários do Instituto Butantan, nos meses de janeiro a março de 1965. Depois de serem estudados macroscòpicamente, foram os corações cortados ao meio no sentido do maior eixo, fixados em formol e montados em blocos de parafina com a preocupação de colocar na superfície do mesmo, as válvulas cardíacas para serem cortadas e estudadas histològicamente. Êsses estudos foram feitos em preparações histológicas coradas pela Hematoxilina e Eosina.

Resultados

Macroscòpicamente, como era de se esperar, a lesão mais fàcilmente diagnosticável foi a pericárdica pela perda precoce de transparência quando da deposição dos uratos. Isso ocorreu em 9 dos 30 casos. Em 7 outros, o diagnóstico sòmente poude ser efetuado pelo exame microscópico devido a pouca intensidade da deposição. Entre êsses, havia 3 nos quais sòmente o endocárdio valvular estava comprometido; 2 outros, nos quais, estavam comprometidos o miocárdio e endocárdio e, finalmente, os 2 restantes, nos quais as lesões endocárdicas eram leves. Os corações em 16 dos 30 casos estavam comprometidos, ou seja, 53,3%.

Discussão e Conclusões

Observamos que o coração apresentou isoladamente, comprometimento pela Gôta Úrica, superior àquele verificado por B. Soerensen e outros (10) em necroscopias completas de serpentes, ou seja, 53,3% para 46%. Tal diferença, a nosso ver, corresponde aos casos nos quais o diagnóstico só é possível através do estudo microscópico dos órgãos. Ainda, é de se assinalar, o alto grau de comprometimento dos endocárdios parietal e valvular em 30% dos casos, ao contrário do observado em outras espécies animais, como por exemplo, o homem e aves.

O elevado comprometimento cardíaco, representado por vêzes pela acentuada deposição dos uratos entre os folhetos pericárdicos e por vêzes pelas lesões valvulares que acarreta, justifica, a nosso ver, grande número de óbitos.

Queremos também assinalar que o gânglio simpático cardíaco localiza-se no *Crotalus d. terrificus* em lugar onde a deposição dos sais de urato é de modo geral intensa e, que não possuem os mesmos uma cápsula protetora. As células simpá-

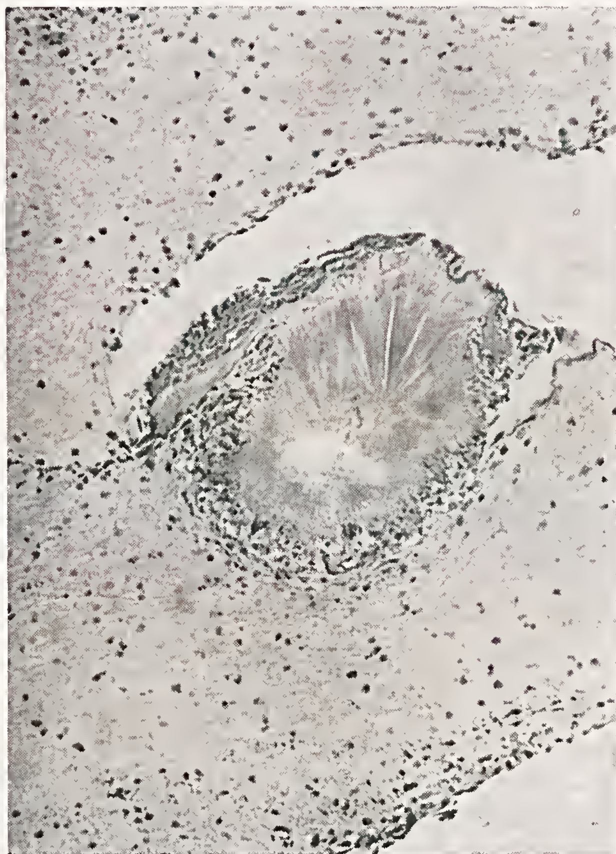


Fig. 1 — Válvula endocárdica de *Crotalus d. terrificus*, apresentando deposição de uratos de sódio — ácido úrico — constituindo verdadeiro Tôfo Gotoso intravalvular. Moderada reação redondo celular em derredor e, início de deposição de elementos corpusculares sanguíneos na superfície endotelial.

ticas em íntimo contato com o tecido fibro-adiposo regional, podem sofrer alterações pela deposição compressiva dos uratos, facilitando a ocorrência de bloqueios cardíacos como foi descrito no homem, por Hench e Darnall (6).

TABELA I — INCIDÊNCIA DE COMPROMETIMENTO CARDÍACO EM 30 SERPENTES (*CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS*)

	Comprometimento				
	Cardíaco (Geral)	Pericárdio	Miocárdio	Endocárdio valvular e parietal	Sòmente valvular
N.º de casos	16	10	7	9	3
%	53,3	33,3	23,3	30,0	10,0

TABELA II — GRAU DE COMPROMETIMENTO CARDÍACO

Pericárdio	(10 Casos)	Miocárdio	(7 Casos)	Endocárdio	(Parietal e valvular) (9 casos)
+	7	+	4	+	5
++	2	++	2	++	1
+++	0	+++	1	+++	2
++++	1	++++	0	++++	1

TABELA III — MODALIDADES DE COMPROMETIMENTO CARDÍACO

	Casos
Pericárdio isoladamente	4
Miocárdio isoladamente	1
Endocárdio isoladamente	3
Peric. + Mioc. + Endoc.	3
Peric. + Mioc.	1
Peric. + Endoc.	2
Mioc. + Endoc.	2

TABELA IV

Autor	Ano	Animal	Localização
Pagenstecher + (1) ..	1863/64	Alligator-Sclerops	Articulação e músculos
Liebig (1)	1849	Alligator-Sclerops	Músculo
Fox (1)	1925	Squamate	Membrana serosa
Osman Hill (1)	1954/55	Aves; Répteis	Articulações, rins e visceras
Hamerton (1)	1932/33/39	Teguexin (3) Crocodilo	—
Appleby e Siller (1) ..	1960	Répteis	Articulações, figado, rim e pericárdio
Soerensen e outros (10)	1962	Crotalus d. terrificus	Rim, figado, serosas, pericárdio, adventicia grandes vasos.

Resumo

Foi feito estudo sôbre a incidência e localização do comprometimento cardíaco pela Gôta Úrica em *Crotalus d. terrificus* que morreram espontâneamente em serpentários do Instituto Butantan. Essa afecção foi encontrada em 53,3% dos casos (16 em 30 corações), assinalando que o estudo microscópico concorre para o encontro de maior número de casos. É demonstrado que a lesão do endocárdio, é especialmente significativa e superior mesmo do que em outras espécies animais. Conclue-se que as lesões cardíacas, aliadas ao fato de que os gânglios simpáticos cardíacos não são protegidos por verdadeira cápsula facilitando a ocorrência de lesões pela deposição compressiva dos uratos nas suas proximidades podem justificar grande número de mortes nessas serpentes.

Bibliografia

1. *Appleby, E. C. and Siller, W. G.* — Some cases of gout in reptiles. *J. Path. Bact.* **80**:427-430, 1960.
2. *Belluomini, H. E. e Hoge, A. R.* — II.º Congresso Latino Americano de Zoologia. São Paulo, 18 de julho de 1962.
3. *Bunin, J. J. and McEwen, C.* — Tophus of the mitral valve in gout. *Arch Path.* **42**:557-563, 1946.

4. *Collins, D. H.* — The pathology of articular and spinal diseases. Edward Arnold & Co. London, 1949.

5. *Gierke, E. von, in Aschoff, L.* — Tratado de Anatomia Patológica. Vol. 1.º:399. Edit. Labor S/A., Barcelona, Madrid, 1950.

6. *Hench, P. S. and Darnall, C. M.* — A clinic on acute old-fashioned gout with special reference to its inciting factors. *M. Clin. North American,* 6:13711393, 1933.

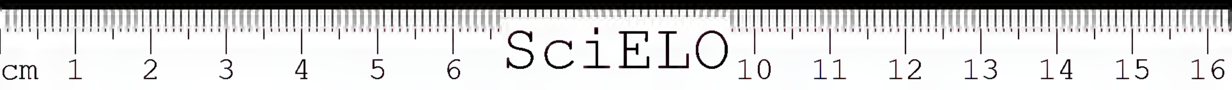
7. *Lichtenstein, L.; Scott, H. W. and Levin, M. H.* — Pathologic changes in gout. Survey of eleven necropsied cases. *The Am. J. Path.* XXII, 5:871-885, 1956.

8. *Pund, E. E.; Hawley, R.; Mac Gee, H. J. and Blount Jr., S. G.* — Gouty heart. *N. Y. Journal Med.* 263:835-838, 1960.

9. *Siller, W. G.* — Avian Nephritis and Visual Gout. *Lab. Invest.,* 8:1319-1357, 1959.

10. *Soerensen, B., Planet do Amaral, J., Belluomini, H. E., Saliba, A. M., Sampaio Corrêa, H. e Hoge, A. R.* — Gôta Úrica visceral em serpentes. Crotalus durissus terrificus (Laurenti 1768). *Arq. Inst. Biol.* 29:271-275, 1962.

11. *Willis, R. A.* — The principles of pathology. Butterworth & Co. London, 1950.



COMPROMETIMENTO DOS VASOS NUTRIDORES DA AORTA EM DOIS CASOS DE RUPTURA ESPONTÂNEA DESSA ARTÉRIA EM EQÜINOS SÔRO-PRODUTORES *

FERES SALIBA e JESUS CARLOS MACHADO

Laboratório de Anatomia Patológica, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

A ruptura espontânea da aorta, conhecida desde Bostroem (1) 1888, tem sido relatada tanto na espécie humana (10) como em outras espécies animais (7, 9, 11 e 13).

Inicialmente era considerada idiopática, mas os exames dos sucessivos casos humanos descritos permitiram o encontro de lesões degenerativas da parede da aorta (6, 8) ligada a diversos processos patológicos e principalmente a hipertensão do sangue dentro dos vasos, a causas degenerativas e metabólicas e a lesões inflamatórias. Experimentalmente (4), conseguiu-se produzir tais lesões no coelho através de colapso ortostático.

Outros autores (2, 14) buscaram interpretar as lesões da musculatura e das fibras elásticas da aorta, como resultado de deficiências de irrigação, devido a lesões degenerativas ou mesmo acomodativas dos "vasa vasorum". Estas foram atribuídas, ora a processos arterioescleróticos (13), ora a hipertensão arterial primária ou secundária (2, 12) e a lesões renais como a produzida pela nefrite glomerular crônica (4).

Nos animais, os casos descritos são por vêzes considerados idiopáticos (9) ou resultantes de lesões do aparelho elástico muscular da média aorta (7, 11, 13).

Êste trabalho demonstra que, ao lado das lesões da média muscular existem, nos casos aqui relatados — dois eqüinos — alterações dos vasos nutridores da aorta semelhantes àquelas verificadas em processos hipertensivos do homem e que certamente são os responsáveis pela ruptura da referida artéria.

MATERIAL E MÉTODOS

O primeiro caso diz respeito a eqüino feminino, 20 anos de idade que há dez meses vinha sendo utilizado no trabalho de preparo de sôro anti-crotálico. Tratava-se de animal indócil que na hora da sangria debateu-se com violência vindo a falecer sùbitamente. O exame cadavérico revelou anemia aguda por ruptura linear

* Trabalho realizado com o auxilio do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan. Recebido para publicação em 25 de fevereiro de 1966.

da aorta, perpendicular ao seu grande eixo, com extensão de 6 cm, localizada a 1,5 cm acima das válvulas sigmóides aórticas e acima da saída dos vasos coronarianos. O coração apresentou hipertrofia do miocárdio.

O segundo caso concerne a eqüino masculino, dez anos de idade, do serviço de produção de sôro anti-diftérico. A aorta revelou ruptura localizada a 1 cm acima das válvulas sigmóides e abaixo da emergência das coronárias.

Tal ruptura apresentava forma de um Y alongado, perpendicular ao grande eixo da aorta, com 5 cm de comprimento no seu braço maior e como no caso anterior, o miocárdio apresentava-se hipertrofiado.

Foi colhido material ao nível das rupturas e feitos cortes histológicos em congelação e parafina, corados pelos métodos de Hematoxilina-eosina, Sudan III, Weigert para fibras elásticas, Van Gieson e Tricrômico de Masson.

Resultados

O exame histo-patológico revelou na aorta áreas de degeneração das fibras musculares e elásticas, substituídas, ora por zonas edemaciadas de coloração basofílica, ora por zonas densas eosinofílicas hialinas, formando no primeiro aspecto, verdadeiros lagos. No sub-endotélio havia presença discreta de material lipoídico sem contudo assumir aspecto ateromatoso.

O estudo microscópico dos vasos nutridores da aorta revelou nas arteríolas (tabela) hiperplasia e hialinização da íntima (figs. 1 a 4), hipertrofia acentuada da média muscular (figs. 5, 7) chegando a obliterar completamente o lume vascular (fig. 6) e elastose (fig. 8) não havendo deposição de lipóides nas arteríolas.

PRESENÇA E INTENSIDADE DOS COMPONENTES LESIONAIS DOS VASOS DA ADVENTÍCIA E DA PAREDE DA AORTA

N.º caso	Hipertrofia muscular	Hialinização	Hiperplasia	Elastose	Lipoidose
1	++	+	+	+	negativo
2	++	+	+	+	negativo

Discussão

As lesões arteriolares dos vasos nutridores da aorta humana, inicialmente admitidos por Wiesel (14), foram descritas por Tyson (13) como proliferação da íntima associada à trombose e discreto grau inflamatório. Ashworth e Haynes (2) descrevem a hipertrofia da muscular dos mesmos vasos. Amronim, Schlichter e Solway (3) assinalam que ao lado da hipertrofia da média ocorre também a elastose. Pasqualucci (12) relata em uma série de casos, comprovadamente hipertensivos, a presença de lipoidose e necrose, por vêzes com granuloma peri-arteriolar de Fahr, assinalando a importância dessas lesões no processo patogenético da ruptura, por isquemia e conseqüente degeneração das camadas muscular e elástica da aorta.

Nos animais, autores como Hirsch (9), não descrevem lesões na parede da aorta, considerando as rupturas como espontâneas, aceitando como explicação, sim-

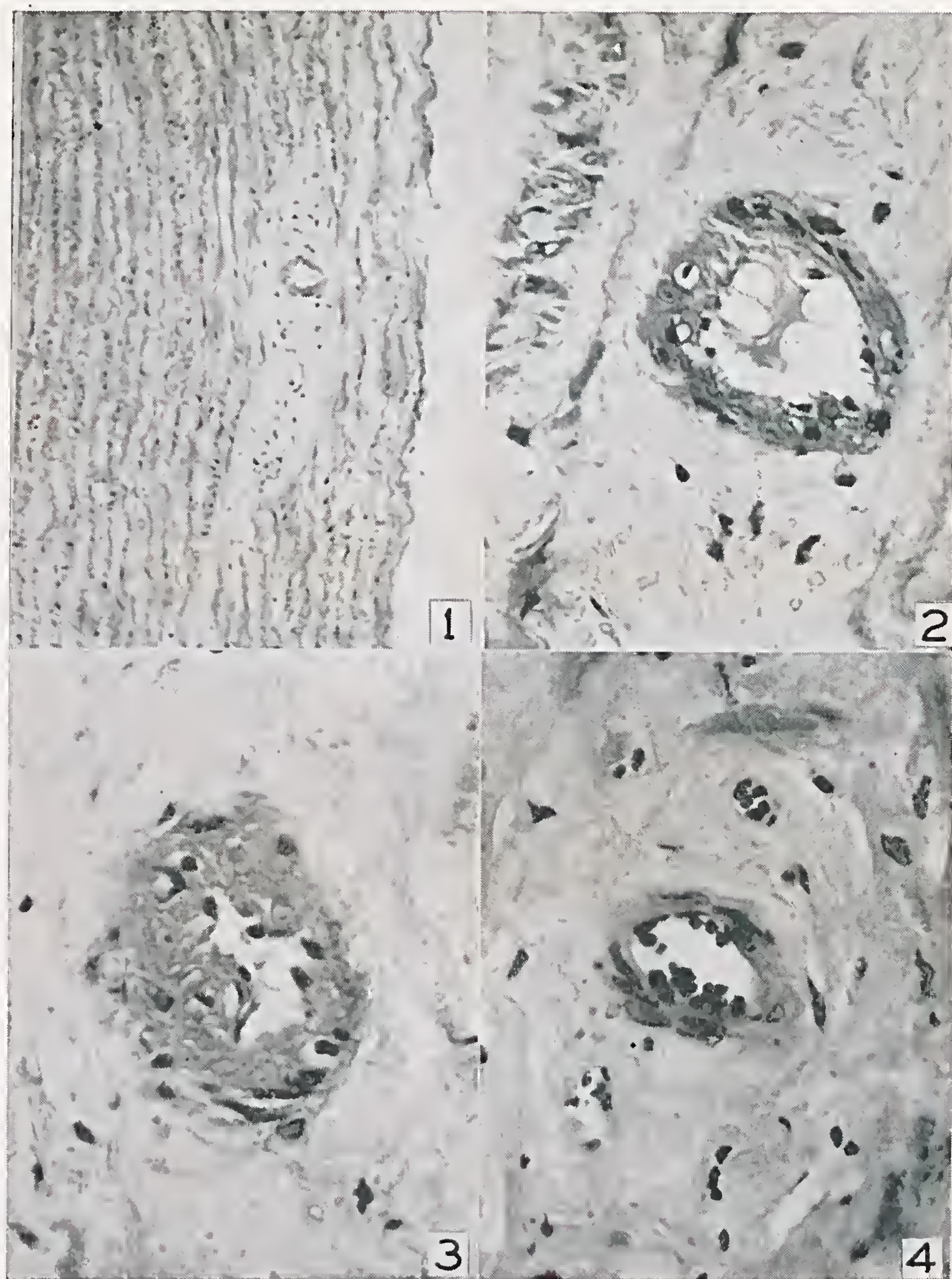


Fig. 1 — Hialinização da parede de uma arteríola próxima à adventícia da aorta. H.E.

Fig. 2 — Hialinização da parede de uma arteríola da adventícia da aorta. H.E.

Fig. 3 — Arteríola da espessura da aorta apresentando necrose da parede por perda de estrutura e diminuição de núcleos, com outros apresentando sinais degenerativos. H.E.

Fig. 4 — Espessamento da íntima por edema do sub-endotélio com diminuição do lume vascular. H.E.

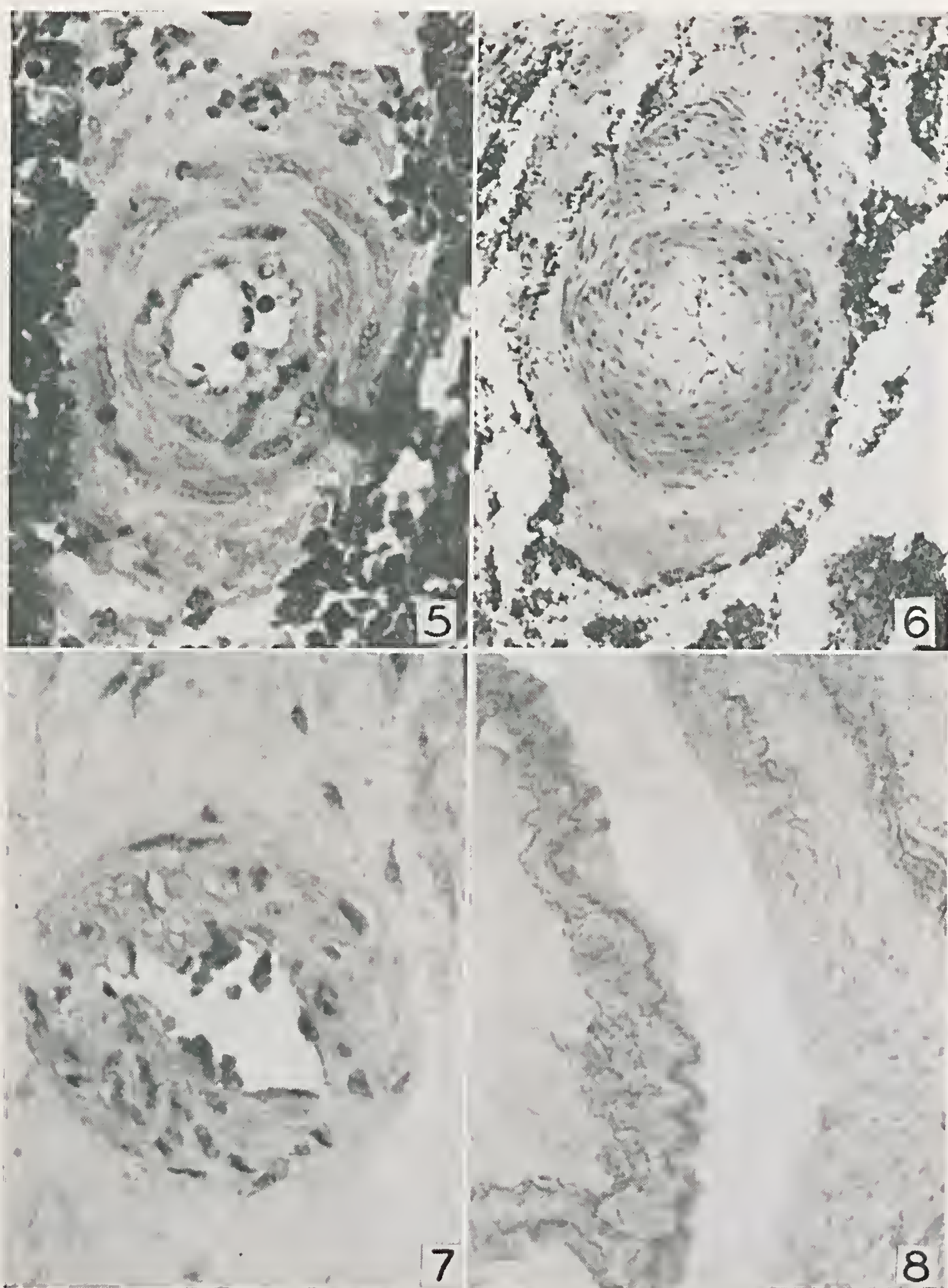


Fig. 5 — Arteríola da adventícia da aorta com espessamento e hialinização das paredes musculares da média. H.E.

Fig. 6 — Espessamento da íntima com quase total obliteração do lume vascular. H.E.

Fig. 7 — Hipertrofia da média de uma arteríola da parede da aorta próxima da adventícia. H.E.

Fig. 8 — Hiperplasia e espessamento das fibras elásticas da íntima. Elastose. Weigert-Van Gieson para fibras elásticas.

ples variações anatômicas dos diversos segmentos da mesma. Siller (13) e Marcato (11), encontraram alterações do sistema músculo-elástico da aorta, assinalando o primeiro que essas são primordiais no processo da ruptura. Guarda (7), ao apresentar um caso de ruptura da aorta em lebre, afirma que as lesões da média lembram a degeneração mucoidecística da aorta humana e associa o caso à periaortite proliferativa que descreveu. Não houve preocupação, por parte dêsses autores, pelo estudo dos vasos nutridores.

Neste trabalho êles foram estudados a fim de verificar quais as lesões presentes e seu possível papel patogenético.

As lesões acomodativas e degenerativas encontradas indicam que os animais eram hipertensos e justificam a isquemia da parede da aorta e sua conseqüente degeneração e ruptura. Nos dois casos não havia lipoidose nessas arteríolas, já que nos mamíferos domésticos ela é muito discreta ou inexiste em tais processos.

A impossibilidade de verificar nos dois eqüinos, lesões arteriolares e parenquimatosas em outros órgãos, tais como os rins, pâncreas, intestino e retina, não permitiram precisar se a hipertensão era primária ou secundária.

O calibre da aorta e de seus vasos nutridores dos eqüinos facilita o estudo das lesões em ambos. Trata-se, portanto, de material inestimável para a elucidação da patogênese dêsse processo.

Resumo

São descritos dois casos de ruptura espontânea da aorta em dois eqüinos sôro-produtores e estudam-se, com especial atenção, as lesões dos vasos nutridores da aorta, onde ocorre hipertrofia da musculatura, hialinização e elastose da íntima, responsáveis por isquemia e lesões degenerativas da parede aórtica e a conseqüente ruptura do vaso.

Summary

Two cases of spontaneous rupture of the aorta are described in two serum-producer horses. The "vasa-vasorum"" lesions were carefully studied, where muscle band hypertrophy, hialinization and intimal elastosis occur, which are responsible for ischemia and degenerative processes in the aortic walls and the consecutive vessel rupture.

Bibliografia

1. *Aschoff, L. von* — Tratado de Anatomia Patológica. 2:91, 1950. 2.ª ed. Edit. Labor S/A. Barcelona.

2. *Ashworth, C. T. & Haymes, D. M.* — Lesions in elastic arteries associated with hypertension. *Am. J. Path.*, **24**:195, 1948.

3. *Amromim, G. D., Schlichter, J. G. & Solway, A. J. L.* — Medionecrose of the Aorta. *Arch. Path.*, **46**:380, 1948.

4. *Carolis, D. & Dina, M. A.* — Soffio diastolico sintomatico di rottura incompleta dell'aorta ascendente in corso di glomerulo nefrite difusa cronica. *Cuore e Circol.*, **34**:294, 1950.

5. *Faria, J. L.* — Medionecrosis Aortae after colapse in rabbits. *Allgem. Path. u. Bakteriol.*, **21**(1):6, 1958.

6. *Furno, A.* — Contributo alla conoscenza clinica e anatomo-patológica delle rotture spontane dell'aorta. *Arch. Path. Clin. Med.*, **3**:26, 1924.

7. *Guarda, F.* — Su di un singolare reperto di rottura dell'aorta toracica associata a periaortite nella lepre. *Analli Fac. Mcd. Vet.* Torino, **9**:299, 1959.

8. *Gzcl, O.* — Wandnekrosen der Aorta als selkständige Erkrankung und ihre Beziehung zur Spontanruptur. *Virch. Arch. path. Anat.*, **270**:1, 1928.

9. *Hirsch, E. A.* — Rupture of the pulmonary artery leading to sudden death in a throroughbred foal. *J. Vct. Med. Ass. Of Ireland,* **6**(1):565, 1952.

10. *Jores, L.* — Arterien, in *Handbuch der spez. Anat. u. Hist.* F. Henke & O. Lubarsch. **2**:672-676, 1924. Verlag von J. Springer. Berlim.

11. *Marcato, A.* — Due nuovi casi di rottura spontanea dell'aorta nel cavalo. *La nuova veterinária,* **14**(6):15, 1941.

12. *Pasqualucci, M. E. A.* — Contribuição para o cstudo da Patogênese da ruptura espontânea da Aorta. Tese de Docência-Livre. Tip. Edannèe, 1960. São Paulo.

13. *Siller, W. G.* — Two cases of aortic rupture in fowls. *The journal of Path. and Bact.*, **83**(1):527, 1962.

14. *Tyson, M. D.* — Dissecting Aneurism. *Am. J. Path.*, **7**:581, 1931.



BLOOD PROTEINIC PICTURE OF THOROUGHBRED HORSES

S. FERRI *; L. F. MARTINS **; M. C. LEITE RIBEIRO ** & T. U. WORSMAN *

Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil
Department of Histology and Embriology, School of Veterinary Medicine, USP

Campello and col. (3) have revised the most important bibliographies about the proteinic picture of the blood serum and the several factors which may have influence on the results.

Patrushev (13) verified that even among Thoroughbred horses there are variations according to the lineage. Individual variations have also been demonstrated (11, 17).

The oscilation of the contents of proteinic fractions in the serum of the equine is such that Geinitz (7) advises that the normal mean values for the populational group we are dealing with, should always be established.

Dzialoszynski and Maciejewska (5) investigated the influence of sex. They could not find any difference for the total proteins between geldings and mares but, in the geldings, beta globulin apparently shows higher levels and albumin exists in greater quantity.

Concerning to serum proteins, Campello (2) did not find different results for male and female Thoroughbred horses.

According to Stankiewicz and col. (17), the rate of serum proteins is not influenced by the sex, the same occurring with the gamma globulins, according to Odebrecht and Branco (12).

There is no objective reference in literature indicating a research work to verify the influence of the proteinic picture of the serum on the performance of the animal.

The present study has been planned in order to analyse the influence of sex on the contents of total serum proteins and the various fractions in Thoroughbred horses, and the influence of the proteinic picture on the competitive capacity of the animal.

Material and Methods

The material for the present work consisted of blood of 120 Thoroughbred horses, with ages ranging from 3 to 5 hippic years, submitted to regular physical exercises and similar regimen and lodged at the Jockey Club of São Paulo.

The animals were divided into two groups called "winners" and "loosers", on the basis of times considered minimum and maximum for 1400 and 1500 meters

* Department of Histology and Embriology of the School of Veterinary Medicine of the University of São Paulo (Caixa Postal 7064 — São Paulo — Brasil).
** Department of Histology and Embriology of the School of Dentistry at Bauru, University of São Paulo.
Received for publication in october 15, 1968.

races, light sand; those which reached times inferior to the minimum were called winners, and loosers those which went beyond the time established as maximum.

The indexes for classification of the animals as winners or loosers were calculated according to the results obtained for 200 animals placed in the 1st and 2nd places and the same number in the two last posts in each of the two races mentioned above.

The data were obtained from the archives of the Comission of Races of the Jockey Club. As only the result of the 1st placed is expressed in "time" and that from the others, in "bodies" in relation to the first, we made a transposition from "bodies" to "time", employing the photochart which documents the races.

In order to verify the validity of the adopted criterion, the scores obtained by the firsts and the lasts were statistically analysed as a preliminar care in the design of a proper experiment. The comparison between the values showed a significant difference between the means of the two indexes at the level of 5% making it valid to use them in the selection of the animals.

After the 1400 or 1500 meters races, light sand, the time of the 1st placed was determined by a chronometer and that of the others by the photochart, thus selecting the competitors on the basis of pre-established characteristics for the sampling.

The animals rested for 16 — 20 hours after the race and the blood was then collected. The horses which we knew were not successful for adverse reasons, as for example, indocibility at the start, were rejected.

The blood was collected from the jugular vein in the morning, before the animals had received their meals, and anything that could excite them was avoided.

10 to 15 ml of blood were collected in 18x140 mm test tubes without the use of anticoagulant, in order to obtain the serum for a dosage of total proteins and electrophoretical analysis.

Total proteins — After coagulation the clot was detached and after retraction the serum was removed and centrifugated at approximately 1000 r.p.m., for 3 minutes, and then kept frozen in a test tube until the analysis could be done.

The Gornall's and col. (9) method was used for this dosage. The results were read through a spectrophotometer using a 540 milimicra wave length.

Proteinic fractions — The electrophoretic migration for the separation of proteinic fractions was made on a No. 1 Watmann's filter paper, in a "Elphor" set, using acetate veronal buffer with ionic force = 1 and pH 8,6.

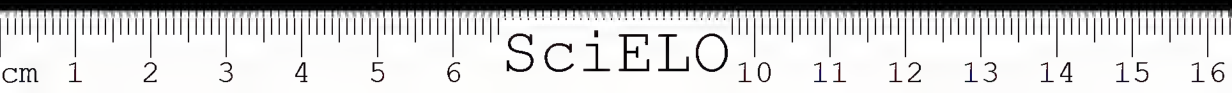
0,7 ml of serum was placed at 9 cm from one end of the paper. The intensity of the current was equal to 2 mA per strip of paper, for 16 hours. The strips were then dried at 70 — 80°C.

They were developed with the use of Schwartz 10 B starch, after Grassman and Hanning's technic, modifyed by Ferri and col. (6); diaphanization was obtained with Elphor's special oil and an "Intergraph" set was used for reading the results.

Statistical analysis — The measures of position and variability were calculated for each group of the experiment.

The comparison between winners and loosers, males and females, was accomplished through the Student's test, after Snedecor (16).

For the comparative analysis of the proteinic fractions, the $alpha_1$ globulin was not taken into consideration, since the values were calculated in percentual



terms and were interdependent, the last value becoming automatically known, and thus being lost one degree of freedom.

The rejection level for these comparisons was 5%.

Results

The results obtained are given on tables I, II, III and IV.

Discussion

Before discussing the results obtained we must point out that, although the number of fractions in the equine serum is variable, we have restrained the analysis to the main fractions, according to the authors taken into consideration (1, 3, 4, 7, 10, 15), thus achieving a more accurate dosage.

The proteins did not differ significantly between males and females of both cathegories, regarding to the total content and also to the fractions.

This confirms some works (2, 12, 17) and contradicts others (5, 14).

There is a significant difference between the two male groups, regarding to total proteins, beta and gamma globulins, which are present at a higher concentration in the loosers. Between the female groups the same occurred, but only with the beta fraction.

Data have not been found in literature to make possible a comparative analysis.

The fact of the total proteins being present at a higher concentration in the loosers might be accounted for a greater loss of liquid by these animals.

We must still point out that before the blood was collected the animals rested for a period of time considered sufficient for them to return to their resting condition.

The serum proteins are very important, its main function being the maintenance of blood volume, carrying and mobilizing antibodies, nourishment, transportation of lipids and other substances, and also mobilization of secreted hormones (8), being difficult to appraise precisely the real significance of the pointed differences.

The beta globulins are related mainly to the transportation of certain soluble lipids, with carotenoids and strogens; to the beta-globulins is also related a specific protein, the siderophilin, which serves for transporting the iron from the intestinal cells to the liver, spleen and bone marrow. Besides, they are related to a number of proteins which are important for the blood clotting and other activities, for example, the prothrombin, inhibitors of thrombin, plasminogen, serum lipase, vaso-pressor substances, etc. (8).

Further researches should be carried on in order to explain the differences we met with.

Antibodies, as it is well known, are related to the gamma-globulins. Speculating on the possible causes for these being found in a smaller number in the winners, we might presume that this is due to the fact that the winners are less challenged by antigenic elements, probably of infectious nature.

Concerning to the females, it is interesting to point out that only the beta globulin fraction presented a significant difference between winners and loosers, but there is no available evidence to substantiate this verification.

TABLE I — SERUM PROTEINS IN MALE THOROUGHBRED HORSES

	Protein		Albumin		Globulins							
					Alfa$_1$		Alfa$_2$		Beta		Gamma	
	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser
Mean	5,88	6,14	2,96	2,97	0,19	0,18	0,57	0,57	0,86	0,98	1,30	1,45
Standard deviation.	0,22	0,48	0,26	0,20	0,030	0,040	0,08	0,10	0,14	0,20	0,25	0,30
Coeff. of variation	0,04	0,08	0,09	0,07	0,15	0,22	0,14	0,18	0,16	0,20	0,19	0,21
Median	5,90	6,20	2,96	2,93	0,17	0,18	0,57	0,54	0,86	0,95	1,29	1,39

TABLE II — SERUM PROTEINS IN FEMALE THOROUGHBRED HORSES

	Protein		Albumin		Globulins							
					Alfa$_1$		Alfa$_2$		Beta		Gamma	
	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser
Mean	5,97	6,10	3,01	2,97	0,19	0,19	0,61	0,62	0,87	1,00	1,29	1,33
Standard deviation.	0,49	0,41	0,25	0,20	0,045	0,030	0,10	0,14	0,20	0,20	0,26	0,28
Coeff. of variation	0,08	0,07	0,08	0,07	0,24	0,15	0,16	0,23	0,23	0,20	0,20	0,21
Median	5,80	6,10	3,02	2,94	0,17	0,19	0,60	0,57	0,83	1,00	1,30	1,31

TABLE III — SERUM PROTEINS IN THOROUGHBRED HORSES

	Protein		Albumin		Globulins							
					Alfa$_1$		Alfa$_2$		Beta		Gamma	
	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser
Mean	5,92	6,12	2,99	2,97	0,19	0,19	0,59	0,59	0,86	0,99	1,29	1,39
Standard deviation.	0,46	0,45	0,20	0,20	0,045	0,030	0,09	0,14	0,20	0,20	0,28	0,30
Coeff. of variation	0,08	0,07	0,07	0,07	0,24	0,16	0,15	0,24	0,23	0,20	0,22	0,22

TABLE IV — SERUM PROTEINS IN THOROUGHBRED HORSES. *T* VALUES FOR THE DIFFERENT CONTRASTS

	Protein	Albumin	Globulins			Critic value of t — at 5%
			Alfa$_2$	Beta	Gamma	
MW x ML	2,60	0,16	—	2,67	2,11	2,00
FW x FL	1,08	0,22	0,31	2,50	0,56	2,00
MW x FW	0,90	0,25	1,33	0,25	0,14	2,00
ML x FL	0,36	—	1,67	0,40	1,60	2,00
W(M+F) x L(M+F)	2,44	0,56	—	3,61	1,89	1,98

M = male; F = female; W = winner; L = looser

Comparisons were made between winners and loosers for total proteins and fractions. The results obtained for males and females were grouped, as no difference was observed between them.

This analysis made it possible to verify that the total proteins and the beta globulins differed significantly in the two groups.

Through this fact we perceive that the differences between the male winners and loosers have sufficiently influenced the results, regarding to the total proteins. The same did not occur in regard to the gamma globulins, where the differences observed before were masked.

Summary

The rates of total serum proteins and its eletrophoretic fractions were analysed in 120 Thoroughbred horses. The animals were divided into two groups, "winners" and "loosers", and comparative studies were made between males and females, winners and loosers.

The statistical analysis showed:

1 — The male winners have lower rates of total proteins, beta and gamma-globulins, than the loosers;

2 — The female winners have lower levels of beta globulins than the loosers;

3 — The male and female winners have lower levels of total proteins and beta globulins than the loosers;

4 — The levels of total proteins and the other analysed fractions are the same for males and females, in both groups, winners and loosers.

References

1. *Ashton, G. C.* — Serum proteins variations in horses. *Nature*, **182**:1029-30, 1958.

2. *Campello, A. P.* — Teores de alguns compostos nitrogenados no sangue de cavalos P.S.I. de corrida, sob a influência do exercício muscular e da glicose. Tese. Escola Superior de Agricultura e Veterinária do Paraná, 1958.

3. *Campello, A. P.; Cardoso, A. T. & Faria, A. M.* — Perfil eletroforético do sôro de cavalos P.S.I. de corrida. An. Fac. Med. Paraná, **3**:3-16, 1960.

4. *Deutsch, H. F. & Goodloe, M. B.* — An eletrophoretic survey of various animals plasma. *J. biol. Chem.*, **161**:1-20, 1945.

5. *Dzialoszynski, L. & Maciejewska, M.* — Frakcje bialkowe surowicy Krwi Kónskiej. *Méd. Vét.*, Varsovia, **13**:173-7, 1957.

6. *Ferri, R. G.; Mendes, E.; Cardoso, T. Y. B. & Tutiya, T.* — Electrophoresis of serum protein in Asthma. Preliminary Report. *J. Allergy*, **27**:494-503, 1956.

7. *Geinitz, W.* — Uber Serumeiweisse von Tieren, die Häufig als Versuchstiere oder zur Gewinnung von Heilseren Dienen. *Klin. Wschr.*, **32**:1108-1111, 1954.

8. *Gonçalves, M. J.* — Sistemas de proteinas. Alguns estudos. Tese. Faculdade Nacional de Medicina, Rio de Janeiro, 1951.

9. *Gornall, A. G.; Baradawill, C. J. & David, M. M.* — Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *J. biol. Chem.*, **177**:751-766, 1949.

10. *Hirtz, J.* — Étude électrophorétique du sérum de chevaux infectés expérimentalement d'anémie infectieuse. *Rev. Immunol.*, **16**:397-405, 1952.

11. *Kunde, H.* — Die Papierelektrophorese des Blutserums bei verschiedenen Erkrankungen der Pferd. *Wiss. Z. Humboldt Univ.*, **10**:273, 1961.

12. *Odebrecht, S. & Branco, C. L.* — Determinação dos teores séricos normais de gama globulinas em cavalos P.S.I. de corrida. *An. Fac. Med. Paraná*, **5**:67-72, 1962.

13. *Patrushev, V. I.* — Physiological variation within the English race-horses. *Compt. Rendus Acad. Sci., URSS*, **23**:710-13, 1939.

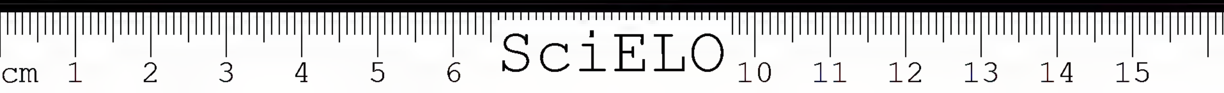
14. *Patrushev, V. I.* — Physiological variation in horse as connected with age. Breed and Performance. *Compt. Rendus Acad. Sci., URSS*, **23**:718-21, 1939.

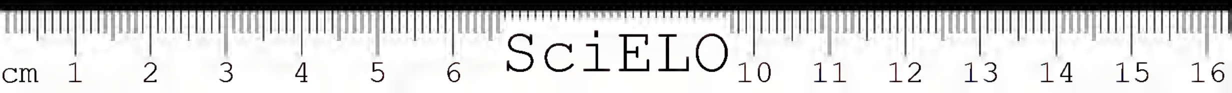
15. *Polson, A.* — Variation of serum composition with the age of horse as shown by electrophoresis. *Nature*, **152**:413-414, 1943.

16. *Snedecor, G. W.* — Statistical methods, 5th ed. Ames. Iowa, Iowa States University Press. 1956, p. 116-27.

17. *Stankiewicz, W.; Markiewiczowa, Z. & Malinowski, W.* — Hematologiczne badania koni pelnejkrwi i rasy Fiording. *Med. vet.*, **16**:594-98, 1960.

18. *Stockl, W. & Zackerl, M. K.* — Papierelektrophoretische Untersuchungen des Serums von Rind und Pferd. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.*, **293**:278-83, 1953.




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

RELATIONSHIPS AMONG PERFORMANCE, SEX AND ERYTHROGRAM IN THOROUGHBRED HORSES *

L. F. MARTINS **; L. R. ARATANGY *** & L. O. MEDEIROS ***

Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Various factors of physiologic and ecologic order have been studied regarding their influence over the blood picture of the equines and many works have showed that alterations of the latter may be the status of health or, on the other hand, may influence the physical capacity. In spite of these correlations, few investigators were interested in the analysis of the relations between hemogram and the capacity of the animal.

Patrushev (9) seemed to be the first one to verify that the quickest horses had higher concentrations of erythrocytes. Later on, there appeared the works of Brenon (2), Irvine (6) and Steel & Whitlock (14), who attempted to demonstrate that the good racers have a better blood picture. Regarding to the influence of sex over the results of the hematologic tests there are great controversies in the literature. Van Den Berg (16) did not verify significant differences in the hemoglobin value and Vaulont (17) noted them for the erythrocytes. McLeod et al. (8), who analysed the blood picture of the Thoroughbred Horses and of the Arabean Horses under different conditions, established that stallions have the highest value for the erythrocytes while the barren mares the lowest. Hansen et al. (5) did not detect differences between the sexes in the various hematologic tests when comparing weanling animals. Curiously, for Delgado (3) the figures for the erythrocytes, hemoglobins and packed cell volumes of the males exceeded that of the females in the higher zones, the contrary occurring in the lower zones. Differences in the erythrogram for both sexes were found by Archer (1), Stankiewicz et al. (13) and Ferri et al. (4). Santos (11) did not confirm that, verifying otherwise these differences in the leukogram.

Considering the scarcity of data in the literature on the relationships between blood picture and performance, and also the disagreement of the authors on the influence of sex. this paper was planned in order to study both problems through the tests used for the evaluation of the erythrogram in Thoroughbred Horses.

---

* This work was supported by grants from Jockey Club de São Paulo and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

** From the Departamento de Histologia e Embriologia, Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo — Bauru, S.P., Brasil.

*** From the Departamento de Histologia e Embriologia, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo — São Paulo, Brasil.

Received for publication in October 15, 1968.

Material and Methods

The material consisted of blood of 120 Thoroughbred Horses with ages ranging between 3 and 5 years, submitted to regular exercises and similar regimen and lodged in Jockey Club of São Paulo. The animals were divided into two groups, which are called "winners" and "loosers".

The selection for these groups was based on the times considered minimum and maximum for the 1,400 and 1,500 meters races, light sand; the ones which reached times inferior to the minimum index were called winners and the ones which went beyond the time established as maximum, were called loosers.

The indexes for classification of the animals as winners and loosers were calculated in function of the results obtained by 200 animals placed in 1st and 2nd places and by the same number placed in the two last posts in each of the races mentioned above.

The setting of the data was made in the archives of the Jockey Club's Commission of Races.

As only the result of the 1st placed is expressed in "time" and the results of the others, in "bodies" in relation to the first, a transposition of "bodies" in "time" was made, using the photochart which documents the races.

In order to verify the validity of the adopted criterion the scores obtained for the firsts and the lasts were previously analysed. The stastistical analysis which was made for comparing these values, demonstrated a significant difference between the mean results at a significance level of 5%, making valid its employment in the selection of the animals.

After the 1,400 or 1,500 meters races, light sand, the time of the 1st placed was determined by a chronometer and that from the others, by the photochart, thus selecting the competitors with pre-established characteristics for the sampling.

The animals rested for 16-20 hours after the race, and then the blood was collected, skiping on purpose the horses which we knew had not been succeded for adverse reasons, like, for example, indocility at the start.

The blood was obtained from the jugular vein in special siliconized flasks, containing an ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (E.D.T.A., sequestrene) in a solution of 10% in a proportion of 10 mg of salt to 5 ml of blood according to indications of Rosenfeld (10), in the morning, before the animals had received their meals, and avoiding anything that could excite them.

The following tests were carried out: counting of erythrocytes, determination of hemoglobin, packed cell volumes and the mean corpuscular hemoglobin concentration.

Erythrocyte counting — The blood was mechanically agitated for 2 minutes and then diluted in the red blood cell pipets, at 1/200 with Hayem's solution. After 2 minutes of mixing with a Clay-Adams agitator about 1/3 of the liquid of the pipet was discarted and the counting was made on a Neubauer counting chamber.

Hemoglobin — It was done with a spectrophotometer under the form of cyanomethemoglobin, as indicated by King & Wootton (7).

The spectrum of cyanomethemoglobin absorptions of thoroughbred horses blood was determined from the beginning in order to know the adequate wavelength for the analysis. The results showed that a wavelength of 540 milimicra should be used (Figure 1).

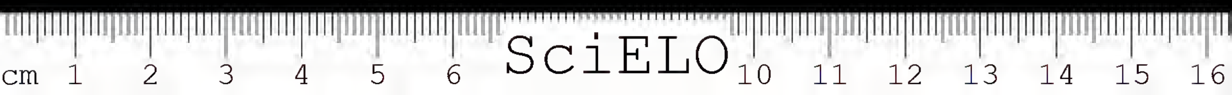
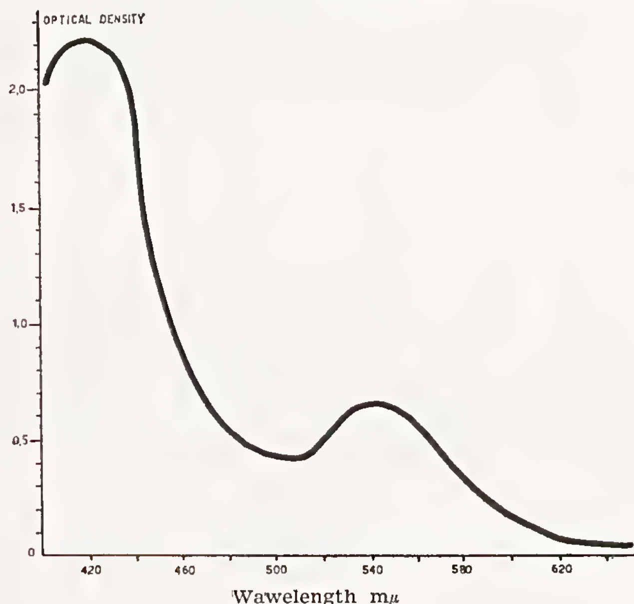


FIGURE 1
Absorption spectrum of cyanomethemoglobin
of thoroughbred horse.



Packed cell volumes — A Wintrobe tube was used to centrifugate the material for 30 minutes at 3,500 r.p.m.

Indexes (M.C.V., M.C.H., M.C.H.C.) were calculated after Wintrobe (18).

Statistical analysis — The distributions of all variables studied in each group were calculated.

The comparisons between winners and loosers, and between sexes were carried on through the Student's test, after Snedecor (12).

The significance level adopted for all the tests was that of 5% (Table I).

Results

The results are in the following tables. Figures 2 to 5 illustrate the dispersion of the results obtained for packed cell volumes and erythrocyte or mean corpuscular volume and erythrocytes for the winners and loosers for both sexes.

Discussion

The analysis of the results showed a significant difference in some of the tests between winners and loosers. A more accurate examination allowed interesting observations. Thus, it was concluded that in the sample of males, the winners had a higher number or erythrocytes, nevertheless mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin were significantly lower. Regarding the number

TABLE I — ERYTHROGRAM IN MALE THOROUGHBRED HORSES

	Erythrocytes cmm		Hemoglobin g%		P.C.V. %		M.C.V. c.μ		M.C.H. $\gamma\gamma$ g		M.C.H.C. %	
	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser
Mean	10.6 x 10^6	9.7 x 10^6	15.92	15.40	50.60	48.80	48.00	50.10	15.08	15.86	31.43	31.59
Standard deviation ...	1.35 x 10^6	1.70 x 10^6	0.75	1.40	2.75	4.74	3.89	3.78	1.40	1.34	1.00	1.59
Coef. of variation	0.13	0.17	0.05	0.09	0.05	0.10	0.08	0.08	0.09	0.08	0.03	0.05
Median	10.3 x 10^6	9.8 x 10^6	16.02	15.56	51.00	49.00	48.00	50.00	15.20	15.56	31.61	31.24

TABLE II — ERYTHROGRAM IN FEMALE THOROUGHBRED HORSES

	Erythrocytes cmm		Hemoglobin g%		P.C.V. %		M.C.V. c.μ		M.C.H. $\gamma\gamma$ g		M.C.H.C. %	
	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser	Winner	Looser
Mean	9.24 x 10^6	9.7 x 10^6	14.79	14.40	45.70	46.20	49.60	50.20	16.80	15.78	32.28	31.21
Standard deviation ...	7.30 x 10^5	1.70 x 10^6	1.02	1.07	3.03	3.14	4.83	4.05	1.57	1.26	1.30	1.68
Coef. of variation	0.08	0.17	0.07	0.07	0.07	0.07	0.10	0.08	0.10	0.08	0.04	0.05
Median	9.4 x 10^6	9.8 x 10^6	15.00	14.53	46.00	47.00	49.50	49.00	16.06	15.29	32.05	31.24

TABLE III — ERYTHROGRAM — t VALUES FOR THE DIFFERENT CONTRASTS

Tests Contrasts	Erythro-cytes	Hemoglobin	P.C.V.	M.C.V.	M.C.H.	M.C.H.C.
MW x ML	2.27	1.79	1.80	2.20	2.20	0.46
FW x FL	0.20	1.44	0.63	0.52	0.89	2.73
MW x FW	4.86	4.91	6.53	1.42	2.64	2.71
ML x FL	0.40	3.11	2.50	0.10	0.24	0.90

Critic value of *t*, 5% = 2.00
MW = Male Winners; ML = Male Loosers; FW = Female Winners; FL = Female Loosers.

of erythrocytes, there was a clear dislocation of higher values favoring the winners, so that the lower number found was that of 9,4 million of erythrocytes per cubic milimeter, ranging till 13,1 while in the loosers the range was from 7.2 to 11,7 million.

This fact is illustrated by Figure 2, which shows distribution of the frequency in the animals in relation to the mean corpuscular volume and to the number of erythrocytes.

These observations confirmed the findings of Patrushev (9) and Brenon (2), who noted that the best animals presented a higher number of erythrocytes. Nevertheless, the data obtained by the last author show great variability (in 207 Thoroughbred animals he found values over 10 and under 6,2 million for the groups of the 10 best, and under 6,2 for the group of the 10 worse, the mean result being 6,8). It is possible that the equines from which the material was collected were not similar in conditions to the ones used in this work.

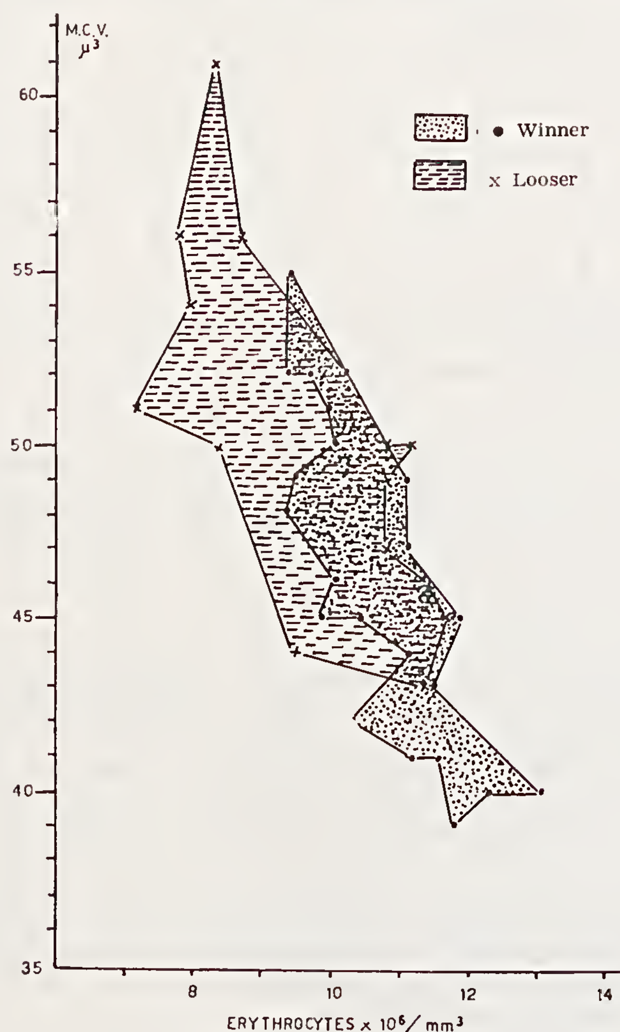
Concerning to hemoglobin, although the difference is not significant between the male winners and loosers, it was found that the lowest value for the former were that of 14,06 while for the later it reached 11,62 grams percent. Probably, it was not feasible to detect any significance between the two groups because of the great variability among the loosers.

The same considerations can be extended to the packed cell volumes of the two groups mentioned above, which is shown in figure 3.

The mean corpuscular hemoglobin concentration does not show any tendency to deviate in the males, in any category. This fact is in disagreement with the observations of Irvine (6) who without defining the sex, asserted that the best animals presented erythrocytes with higher saturation of hemoglobin. The same author, examining the blood of 30 of the quickest racers among 184 animals, found much smaller values than the ones here marked for hemoglobin and packed cell volumes. Besides, the mean value in these with reference to this sample and to the total group of equine, roughly did not present differences and it must be pointed out that the data obtained were very low, which seems to indicate that his sample is not adequate for this kind of study.

FIGURE 2

Frequency distribution of thoroughbred males, winner and looser, in relation to the mean corpuscular volume (M.C.V.) and the erythrocytes number



Analysing now the results found for the females, in respect to the already commented tests, it was noticed that only the mean corpuscular concentration shows significant difference with a higher value for the winners. No explanation could be suggested for these observations as it did not occur in the males. Concerning the tests in which the results did not differ significantly, the main reason seems to be that they showed a more compact distribution for the winners, as they did not reach very high values, mainly in the number or erythrocytes. Figure 4 and 5 show this aspect for the erythrocytes, packed cell volumes and mean corpuscular volume.

Therefore, in spite of the loosers been abble to show high blood values, which in a certain way confounds the perception of the differences, the winners, in particular the males, caracterize themselves always for results above a minimum relatively high for the majority of the tests, the contrary occurring with the mean corpuscular hemoglobin. The differences are so accentuated for these two last tests and for global counting of erythrocytes in the males, that they differ significantly in both experimental groups. These facts indicate that the animals which have these characteristics are with great probability the fittest. Naturally, the capacity from the hematologic point of view does not necessarily demonstrate that all these animals are always winners, because other factors take part in the final result.

In reference to the results of the research for the evaluation of the sex's influence over the blood picture it was observed that the number of erythrocytes was significantly higher for the males in the category of winners, differences having not been found in the loosers.

The study of the tables permits understanding of these facts apparently in disagreement, since, between the loosers, the number of erythrocytes showed relatively high frequency of low values, which did not occur with the winners.

FIGURE 3
Frequency distribution of thoroughbred males, winner and looser, in relation to the hematocrit and the erythrocytes number

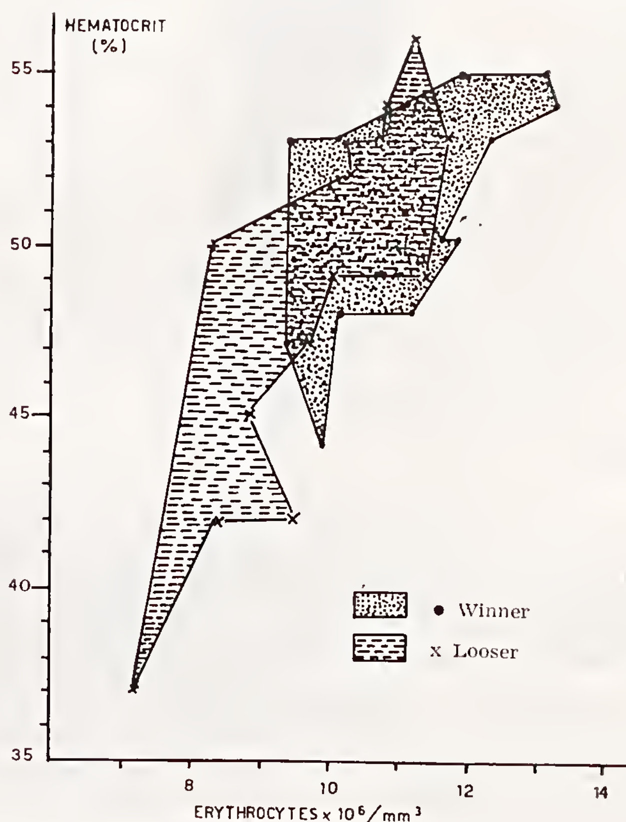


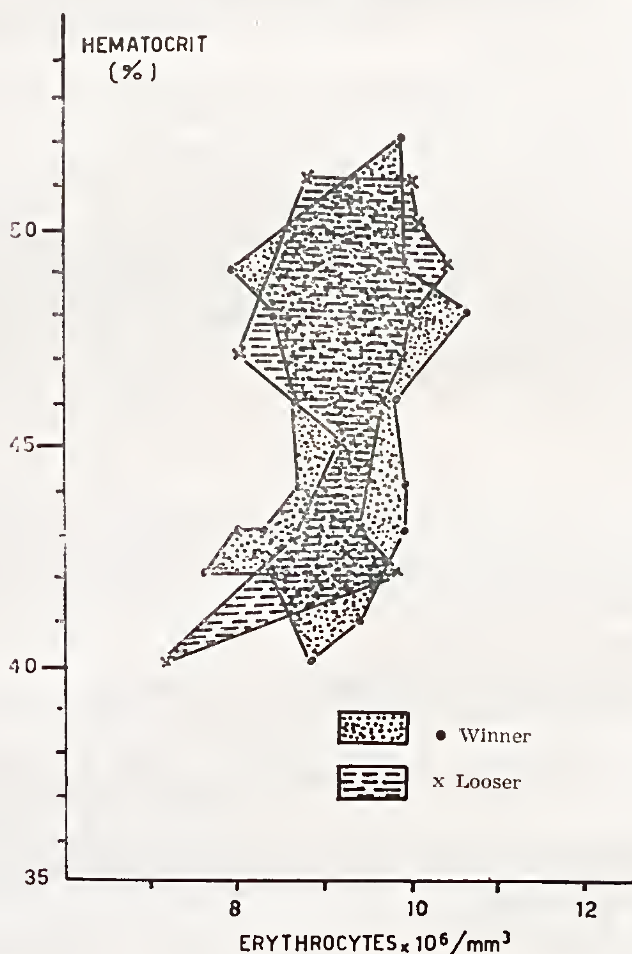
FIGURE 4

Frequency distribution of thoroughbred females, winner and looser, in relation to the mean corpuscular volume (M.C.V.) and the erythrocytes number



FIGURE 5

Frequency distribution of thoroughbred females, winner and looser, in relation to the hematocrit and the erythrocytes number



Besides, high values are also found among the loosers which leads them to a greater variability. As the values of erythrocytes present a lower dispersion for the females in both groups, a significance which can be found when the male and female winners are compared, is not observed when dealing with the loosers. Thus, this fact comes to be an evidence of the tendency to higher values presented by the male winners, although an indirect one.

These aspects show a need for homogeneous samples for the hematologic contrasts, between sexes, homogeneousness which is much higher in the population of winners, thus permitting to accept as real a difference found in relation to the number of erythrocytes and confirming the findings of other authors (1, 8, 13, 17).

The hemoglobin is seen significantly higher in the males, both winners and loosers which is in agreement with Stankiewicz et al. (13) but not with the observation of Archer (1), Santos (11) and Van Den Berg (16).

The packed cell volumes behaved similarly to the hemoglobin, which confirms the findings of Santos (11), while the mean corpuscular volume did not differ between the two categories.

The differences found concerning the mean corpuscular hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration were significant only in relation to the winners, being smaller in the males. As the hemoglobin values and number of erythrocytes are used to calculate the mean corpuscular hemoglobin, and the computation of the mean corpuscular hemoglobin concentration is based upon the hemoglobin and packed cell volumes, their values are not independent and one could antecipate the results for the mean corpuscular hemoglobin as it was shown by Archer (1). Concerning the results of the mean corpuscular hemoglobin concentration however, the fact can only be attributed to a redistribution of the variables with an increase of variability, since the elements used for its calculation differ in sex for both groups.

Summary

The main tests which are used for the evaluation of the red series of the blood picture were carried out with 120 Thoroughbred Horses. These equines were divided into two groups considered "winners" and "loosers". They were separated according to their sexes and comparisons were made between males and females and between winners and loosers.

The statistical analysis showed:

1) The male winners have a higher number of erythrocytes, but the mean corpuscular volume and the mean corpuscular hemoglobin are lower than those of the loosers.

2) The female winners show a higher mean corpuscular hemoglobin concentration than the loosers.

3) In the group of the winners, the number of erythrocytes, the hemoglobin values and packed cell volumes are higher in the males while the mean corpuscular hemoglobin and the mean corpuscular hemoglobin concentration are lower than in the females.

4) The male loosers have higher hemoglobin values and packed cell volumes than the females.

References

1. *Archer, R. K.* — The normal haemograms and coagulograms of the English Thoroughbred horse. *J. Comp. Path. Ther.*, 69:390-9, 1959.

2. *Brenon, H. C.* — Erythrocyte and hemoglobin studies in Throughbred horses. *J. Amer. vet. med. Ass.*, Chicago, **128**:343-5, 1956.

3. *Delgado, M. L. V.* — II. Valores hemáticos normales y sus variaciones en equinos jovenes de Venezuela (P.S. de C.). Estudio de los valores sanguíneos y sus variaciones segun la zona y el sexo. *Rev. Vet. Venezolana*, **11**:145-220, 225-71, 1957.

4. *Ferri, S.; Gomes, C. E. S. & Martins, L. F.* — Quadro hemático no cavalo Puro Sangue Inglês. (In press).

5. *Hansen, M. F.; Todd, A. C.; Cawein, M. & McGee, W. R.* — Studies on the hematology of the Thoroughbred horse. II. Weanlings. *Amer. Jour. vet. Res.* **11**:393-6, 1950.

6. *Irvine, C. H. G.* — The blood picture in the race horse. I. The normal erythrocyte and hemoglobin status. A dinamic concept. *J. Amer. vet. med. Ass.*, **133**:97-101, 1958.

7. *King, E. J. & Wootton, S. D. P.* — Microanalysis in Medical Biochemistry. 2.ª ed., New York, Grune Stratton, 1956, p. 36-38.

8. *MacLeod, J.; Ponder, E.; Aitken, G. J. Jr. & Brown, R. B. Jr.* — The blood picture of the Thoroughbred horse. *Cornell Vet.*, **37**:305-13, 1947.

9. *Patrushev, V. I.* — Speed and blood value of English race-horses. *Compt Rendus Acad. Sci. URSS*, **23**:714-7, 1939.

10. *Rosenfeld, G.* — Etilenediamina tetracética dissódica (EDTA) como anticoagulante para técnica hematológica. *Rev. clin. S. Paulo*, **31**:65-71, 1955.

11. *Santos, R.* — Determinações hematológicas em cavalos P.S.I. antes e depois do exercício muscular. Tese. Escola Superior de Agricultura e Veterinária, Curitiba, Paraná, 1960.

12. *Snedecor, G. W.* — Statistical methods, 5th ed. Ames. Iowa States University Press. 1956, p. 166-67.

13. *Stankiewicz, W.; Markiewiczowa, Z. & Malinowski, W.* — Hematologiczene badania koni pelnejkrwi i rasy Fiording. *Med. vet.*, **16**:594-8, 1960.

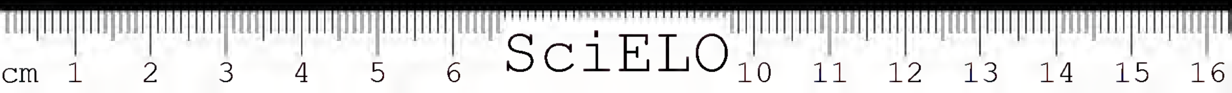
14. *Steel, J. D. & Whitlock, L. E.* — Observations on the haematologic of Thoroughbred and Standardbred horses in training and racing. *Australian vet. J.*, **36**:136-42, 1960.

15. *Tapernoux, A. & Pagnon, F.* — Contribution a l'étude de la sédimentation globulaire du sang de cheval. *C. R. Soc. Biol.*, **115**:64-66, 1933.

16. *Van Den Berg, J. H.* — Diss. Utrech., 1927. Cit. Trum, B. F. — Normal variances in horse blood due to bred, age, lactation, pregnancy and altitude. *Amer. J. Vet. Res.*, **13**:514-9, 1952.

17. *Vaulont, H.* — *Z. Biol.*, **96**:241, 1935. Cit. Trum. B. F. — Normal variances in horse blood due to bred, age, lactation, pregnancy and altitude. *Amer. J. vet. Res.*, **13**:514-9, 1952.

18. *Wintrobe, M. M.* — Clinical Hematology — 5th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1965, p. 402-3.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

O DESENHO MICROSCÓPICO NA DOCUMENTAÇÃO CIENTÍFICA. NORMAS PARA O SEU APRENDIZADO

LUCILIA MAIA AMORIM *

IMPORTÂNCIA DO DESENHO MICROSCÓPICO NAS CIÊNCIAS MORFO-BIOLÓGICAS. SUA NECESSIDADE.

Pouco valor se dá ainda, entre nós, ao desenho microscópico como documentação científica para as publicações de livros, atlas, monografias, trabalhos de pesquisas, etc.

Com algumas raras exceções, nem mesmo se começou a reconhecer a necessidade dêsse gênero tão importante e valioso de documentação científica. Entretanto, as numerosas publicações estrangeiras, tanto antigas como recentes, de vários países de cultura tradicional, ilustradas com desenhos microscópicos coloridos e até em branco e prêto, estão sempre a atestar a necessidade e a importância dêsse gênero de documentação, não obstante o uso atualmente mais generalizado das microfotografias, por serem estas mais fáceis de obter.

Citaremos apenas algumas obras em que o valor do desenho como meio de ilustração se torna evidente. Assim, em anatomia patológica, por exemplo, o grande tratado de Henke e Lubarsch, não só em seus volumes mais antigos, como ainda em seus últimos volumes editados depois de 1955, sôbre Sistema Nervoso; o tratado de Anatomia Patológica Geral de Buechner, Roulet e Letterer; o compêndio de *Histopatologia* de Borst tão útil e elucidativo nos casos duvidosos de diagnostico, quase inteiramente ilustrado com desenhos microscópicos; a *Patalogia Morfológica* de Hueck (1944) feita quase exclusivamente com desenhos em branco e prêto, freqüentemente esquematizados; o *Atlas du Cancer* em 9 fascículos editado pela Association Française pour l'étude du Cancer, inteiramente ilustrado com desenhos microscópicos coloridos; o *Diagnostic du Cancer Genital Chez la Femme*, Raymond Bourg, Claude Compel, Jean Paul Pundel (1954), o *Atlas of Exfoliative Cytology* de Papanicolau publicado em 1954, reeditado ùltimamente em 1962.

Em histologia normal, são numerosos os livros didáticos que empregam preferentemente o desenho microscópico como meio de ilustração. Assim, além do tratado de Moellendorf, os compêndios, dêsde os clássicos como Rudolf Krause, G. Levi, etc., até os mais recentes de Maximow-Bloom, o de Worth-Han (1958) e Ham e Lesson (1961), e a *Histologia Normal* de Celestino da Costa que inclue

* Desenhista microscopista do Departamento de Patologia, Cátedra de Anatomia e Fisiologia Patológicas da Escola Paulista de Medicina (Prof. M. de Freitas Amorim, ex-chefe da Secção de Anatomia Patológica do Instituto Butantan).
Recebido para publicação em 17 de julho de 1968.

vários desenhos do próprio autor; a histologia de Schumacher e Marienfrid, em edições atuais, etc. Inúmeras são as obras que deixamos aqui de mencionar para não nos alongarmos demasiadamente.

Em certos casos, é indiscutível a necessidade dos desenhos microscópicos para demonstrar detalhes histológicos, sòmente possíveis de reproduzir a bico de pena ou a pincel. Uma gôta de gordura por exemplo, em cortes corados pelo Escarlate R. pode ser muito melhor reproduzida por uma gôta de tinta transparente aplicada com o pincel. A microfotografia só dá nesse caso, uma imagem opaca e empastada.

A estrutura finíssima dos glóbulos sanguíneos, principalmente as pequenas diferenças existentes entre os glóbulos imaturos, podem ser admiràvelmente imitadas com o uso de tintas transparentes como o nankin, e a aquarela.

A composição microscópica das estruturas de natureza fibrilar, qualquer que seja a coloração usada nos preparados, o tecido nervoso impregnado pela prata como nos métodos de Cajal para a demonstração das neurofibrilas, a coloração da mielina pelo método de Spielmeyer, a representação da micro e oligodendroglia pelos métodos de Hortega e Penfield, que nas microfotografias aparecem mais grosseiramente, empastadas, podem ser nítidas e perfeitamente imitadas em tôdas as suas complicadas tramas e minúcias pelo pincel e a bico de pena.

A representação dos diferentes planos, tão necessária para evidenciar os prolongamentos nervosos, a direção das fibras, etc. nunca é tão perfeita em uma microfotografia, como em um desenho microscópico. Da mesma forma os detalhes íntimos das células cancerosas, os distúrbios nucleares, mitoses patológicas e normais, a evidenciação até de cromosomas superpostos, etc.

Êstes são apenas alguns dos numerosos exemplos que poderiamos aduzir demonstrando a enorme vantagem e a necessidade dos desenhos microscópicos, de tão larga aplicação também em tantos outros ramos da ciência, como à Botânica, Zoologia, Genética, etc.

Um desenho microscópico bem objctivo e perfeito, dá a idéia exata do preparado. Por isso, é extremamente útil e elucidativo, facilitando o reconhecimento do tecido e o diagnóstico durante o aprendizado da histologia e da histopatologia.

Não é esta uma afirmação apaixonada de quem se devotou a êste mister. Ouçamos a abalizada opinião dos grandes histologistas: Celestino da Costa e Chaves, que em sua última edição revista e aumentada preceituavam "Como documentação científica, exceptuando a microfotografia, que tem suas indicações especiais, o desenho é a forma de expressão mais completa que possui o micrógrafo; esta forma de expressão é muito mais objetiva que a verbal ou escrita e muito mais clara e compreensível. Um bom desenho com uma concisa legenda, vale uma longa descrição" (Manual de Técnica Histológica, 3.ª Edição, 1943).

O *desenho microscópico* chamado didático (vide adiante pág. 196) como auxiliar de aprendizado de histologia e histopatologia, é também preconizado por muitos, pois auxilia a gravar melhor na memória do aluno as imagens microscópicas.

Por isso, em alguns cursos de Histologia Normal e Embriologia e em Anatomia Patológica de nossas Faculdades, a exemplo do que é feito em certas Univesidades estrangeiras, o desenho mesmo simplesmente feito a lápis de côr é obrigatório. Assim, M. F. Amorim, na Escola Paulista de Medicina, desde 1943, exige em seus cursos práticos de Histopatologia o desenho de todos os preparados demonstrados e emprestados aos alunos em caixas de 100 ou mais lâminas. Êstes

devem apresentar o seu caderno individual, para poderem entrar nos exames práticos e finais. Assim procede êsse professor, afirmando: "só desenhando podemos ver e gravar certos detalhes que nos passariam completamente desapercebidos ao exame habitual dos preparados a uma simples vista de olhos". O mesmo faz, segundo sabemos, o Prof. Nilceu Marques de Castro na cadeira de Histologia e Embriologia da mesma Escola.

Wolfgang Buecherl ainda ùltimamente, em seu ótimo livro de Técnica Histológica, atualizado e reeditado em 1962, afirma: "Desenhar ao microscópio educa o ôlho do observador para o estudo dos detalhes. Só o que foi desenhado, foi realmente visto". "Um bom desenho de uma estrutura histológica ou de um animal nôvo para a ciência, esclarece o leitor mais que a descrição".

Evidentemente, dadas as dificuldades que se encontram para se chegar a ser um bom desenhista miscroscopista, principalmente devido à necessidade do preparo científico prévio, segundo o ramo da ciência em que se venha a trabalhar, poucos são aqueles que, mesmo em países adiantados, se dedicam a êsse campo tão difícil, ingrato e de regra mal recompensado.

Todavia, nos grandes centros, um desenhista microscopista, é considerado como um artista extremamente especializado, e recebe da parte dos cientistas um grande estímulo, pela compreensão e respeito ao seu enorme auxílio nas publicações, e o alto nível do seu trabalho.

Julgamos importante, por isso, incentivar também entre nós o cultivo desta arte que vive modestamente escondida na sombra de alguns laboratórios ou fechada nas estantes de livros e visível apenas para uns poucos que entretanto, lhe sabem dar o devido valor.

Realmente, não se deve esperar que êsse trabalho, tão altamente especializado, apareça a vista de todos como tarefa de primeira grandeza. O principal é que se consiga coadjuvar, dando uma pequena colaboração à ciência ainda que indireta e modesta, embora fiquem ignorados todos os esforços, o preparo prévio e o idealismo exigidos do desenhista microscopista.

Antes, contudo, de passarmos às técnicas do desenho microscópico vejamos ainda algumas considerações sôbre suas vantagens e desvantagens em relação à microfotografia.

O desenho microscópico em face da fotomicrografia. Importância e limitações respectivas

Por tôdas as dificuldades acima referidas e devido aos progressos da fotomicrografia, passaram alguns cientistas a usar como ilustração sòmente esta última, o que entretanto, conforme o caso, poderá dificultar ao estudante ou mesmo ao pesquizador o trabalho de identificar uma lesão ou um tecido. Todavia, muitos autores entre os mais esclarecidos, como citamos, continuam, malgrado as dificuldades, usando também os desenhos microscópicos coloridos em seus trabalhos e obras, embora na maioria dos casos de permeio com microfotografias.

Certamente, em numerosos casos, o uso da fotomicrografia colorida e mesmo em branco e prêto, presta relevantes serviços e é insubstituível, na documentação científica. Longe de nós pretender diminuir o valor inestimável dêsse tipo de ilustração.

Todavia, julgamos importante chamar a atenção para a necessidade absoluta do uso mais frequente dos desenhos microscópicos nas publicações científicas, principalmente naquelas que têm finalidade mais acentuadamente didática. Além

disso, achamos útil salientar os perigos da má aplicação das microfotografias quando mal feitas ou mal escolhidas, pois estas não raro reproduzem também os defeitos e artefatos de técnica acaso existentes em preparados tidos até como perfeitos, além de acrescentar-lhes muitas vêzes outros, inerentes a própria microfotografia segundo adiante veremos, o que pode levar o estudante a êrros de interpretação, etc. Nem por outro motivo Wolfgang Buecherl salienta judiciosamente: "Cuidado com as microfotografias! Para que uma reprodução microfotográfica possa realmente vir a constituir uma documentação detalhada e correta do que se observa de fato sob o microscópio, deveriam ser sanados inúmeros inconvenientes". (Técnica Microscópica, pág. 31, 1962).

A principal desvantagem da microfotografia, tanto em branco e prêto como colorida, é que ela reproduz inexoràvelmente os defeitos acaso presentes nos preparados microscópicos. Muitas vêzes pode acontecer que êstes não tenham sido notados ao exame prévio, mas aparecem então na foto de modo a chamar a atenção e a prejudicar a sua interpretação, para não nos referirmos já a sua beleza e perfeição. Outras vêzes, eram quase invisíveis ao exame comum e agora chamam a atenção, como manchas, bolhas de ar, grãos de poeiras atmosféricas, precipitados, ou mesmo artefatos de técnica, etc. Nestes casos, quando se é habituado a usar só a microfotografia, pode acontecer que nos vejamos obrigados a pôr de lado um preparado precioso e único, insubstituível, só porque no ponto justamente escolhido para a fotografia, apresenta qualquer dessas imperfeições, mesmo que o seja em planos diferentes do foco desejado, mas que na microfotografia nos irá perturbar por aparecer como uma mancha preta ou um defeito indesejável e impossível de ser afastado. Fatos como esse já ocorreram não raramente neste laboratório e certamente também em outros. Óra, com o desenho podem se aproveitar também tais preparados, quando de reconhecido valor científico, pois o desenhista não será obrigado nem deverá reproduzir o que não faz parte integrante do objeto.

Por outro lado, mesmo independente dêsses senões, também em muitos outros casos, como é fácil de se constatar ao analisar muitos livros didáticos ou trabalhos de pesquisa atuais, a microfoto nem sempre é o método ideal para o escopo didático, mesmo em se tratando de livros científicos, médicos, etc., pois freqüentemente muitas imagens que se vêm nêsses livros, são difíceis de serem "lidas" ou "interpretadas", nada demonstrativas e, portanto, mesmo antididáticas.

Ocorre ainda uma outra desvantagem comumente observada nêste laboratório e em inúmeros trabalhos atuais. Muitas vêzes aparecem na figura, formando um fundo artificial à mesma, tonalidades ou manchas que o preparado não contém. No caso especial das microfotos coloridas, é comum sobrevir uma coloração de fundo "adicional" que absolutamente não existia no preparado original, não raro prejudicando enormemente a reprodução fiel do mesmo. Assim um defeito conhecido, por exemplo, por todos aqueles que estão habituados com o trabalho de microfotos em côres, é o fundo demasiado amarelo esverdeado ou azulado que constitue um inconveniente de certos filmes, além de ser extremamente anti-estético.

Em conclusão, pois, também a microfotografia tem as suas indicações precisas e deve ser bem escolhida para ser útil. Só as microfotos muito perfeitas claras e nítidas, com rigorosa exposição dos detalhes e de fundo devem ser aproveitadas para publicação, após serem submetidas a rigorosa crítica e seleção artística e técnica. Não é só por ser microfoto que pode ser utilizada, pois, quando má, a ilustração iconográfica de qualquer trabalho, seja ela qual fôr, tanto desenho como fotografia, diminuirá certamente o valor do mesmo, baixando-o a um nível inferior.

Dada a ausência de cursos de desenho científico entre nós, dedicamos longos anos a êsse mister em demorado preparo prévio artístico e científico no Brasil, êste último nos Laboratórios de Anatomia Patológica do Instituto Butantan e Escola Paulista de Medicina (serviço do Prof. M. de Freitas Amorim). Mais tarde na Alemanha continuamos êsse estudo, trabalhando primeiramente no Instituto de Patologia Cerebral de Spielmeyer-Scholtz, em Munich, depois na Universidade de Freiburg in Breisgau, sob a direção do Prof. Bissier e no Instituto de Patologia de Aschoff.

Procuramos resumir adiante alguns conselhos práticos ditados pela nossa experiência, na esperança de que sejam úteis àqueles que tiverem o desejo de se dedicar ao desenho microscópico.

Preparo prévio para o desenho microscópico. Conhecimentos artísticos e técnicos. Preparo básico científico.

Como ainda não existem entre nós cursos apropriados especiais para o desenho científico, onde os alunos possam adquirir ao mesmo tempo tanto os conhecimentos artísticos como o preparo científico, só podemos admitir, evidentemente, que possa abordar a especialização em desenho microscópico, aquele que já tenha um bom preparo cultural biológico e artístico prévios.

A prática em desenho e pintura é necessária, pois a firmeza e a segurança do pincel só se conseguem após longa paciência e treinamento, e sem essa qualidade é inútil tentar o desenho microscópico para ilustrações.

Partindo dêsses princípios, deve-se passar ao preparo científico dentro da especialidade em que se vae trabalhar. É necessário que o aluno além de possuir as bases científicas indispensáveis adquira pelo menos noções gerais sôbre o assunto a abordar.

Como porta de entrada, julgamos muito importante as noções gerais de histologia e citologia. Além do aluno adquirir com isto conhecimentos indispensáveis sôbre as diversas estruturas de tecidos e órgãos, aprende a penetrar assim na intimidade dos mesmos e a educar a visão no microscópio.

No caso da Anatomia Patológica é indispensável que o desenhista esteja familiarizado também com a imagem microscópica dos diferentes tecidos e órgãos normais e patológicos. Para êsse fim deve êle freqüentar as aulas de projeção de lâminas e estudar, tanto quanto possível, as mesmas ao microscópio, com as respectivas descrições, de modo a "adquirir uma visão, ainda que parcial, de alguns aspectos microscópicos comuns nessa ciência".

No caso dos ramos mais especializados da ciência, havendo já uma base, os conhecimentos necessários de histologia e histopatologia serão mais limitados para o desenhista. Assim se êste vai trabalhar para a patologia do olho por exemplo, bastam-lhe os conhecimentos mais profundos de histologia e histopatologia ocular e o mesmo se dará com outras especialidades.

Esses conhecimentos preparatórios acima citados, podem ser adquiridos durante uma freqüência, como ouvinte, às aulas de Histologia Normal e Patológicas e a aplicação ao microscópio pelo espaço de um ano aproximadamente, enquanto o aluno exercita, em primeiros ensaios, o desenho das imagens microscópicas, procurando objetivá-las bem a lápis de côr ou prêto ou mesmo já a nankin ou a aquarela.

O mesmo seria aplicável a outras especialidades, variando, como disse, a extensão dêsses estudos, segundo a sua necessidade.

Sòmente após êsse preparo, deve o aluno se considerar apto a começar realmente a fazer as primeiras tentativas de realização do desenho microscópico aplicável à ilustração de trabalhos científicos.

Os diferentes tipos de desenhos microscópicos

Existem vários tipos de desenho microscópico, conforme a sua finalidade.

1 — *O desenho microscópico chamado didático* usado no aprendizado de ciências biológicas, médicas, etc. Tem a finalidade de desenvolver as faculdades de observação, da memória visual, auxiliando o estudante a reter os caracteres morfológicos e as suas relações topográficas. Concorre pois com eficiência para o aprendizado científico.

É geralmente semi-esquemático, feito a lápis de côr ou mesmo prêto. Deve reproduzir o mais corretamente possível a estrutura do preparado. Porém, evidentemente não se pode exigir que seja obrigatòriamente perfeito, isto é, representando ora o relevo, ora a profundidade dos diferentes planos, tais como são vistos ao microscópio, o que exigiria já muito mais tempo para a sua execução e especial capacidade artística. Êsses desenhos devem apenas demonstrar que o aluno compreendeu, aprendeu e interpretou a estrutura do objeto estudado, reproduzindo-o diretamente da natureza. São geralmente feitos a lápis de côr para maior rapidez.

2 — *Desenho microscópico para documentação de trabalhos científicos:* a finalidade de um desenho microscópico dêsse gênero é sempre demonstrar um aspecto histológico que possa ser realmente reconhecível. Sua função pode ser ainda aqui também didática ou apenas comprobatória de achados científicos, o que aliás não exclue a possibilidade de ser aproveitável também para o ensino.

Assim sendo, pensamos que só se pode conceber um desenho desta espécie, quando seja a expressão fiel da verdade, o que aqui significa a reprodução exata do preparado.

Ao desenhista microscopista não é permitida nenhuma fantasia. Os seus olhos trabalham como uma objetiva fotográfica, facultando-lhe porém, maiores recursos técnicos, que lhe permitem, como dissemos no início deste trabalho, reproduzir aspectos e detalhes que, ao contrário do que se pensa comumente, muitas vêzes não podem ser atingidos pela própria microfotografia.

O pesquisador exige pois, do seu desenhista, uma grande honestidade científica, não permitindo nunca ao seu pincel, nenhum ligeiro desvio ou interpretação fantasiosa.

Êste é não sòmente o nosso modo pessoal de interpretar e executar os desenhos microscópicos para ilustração, como também o de vários outros desenhistas, como muitos principalmente da escola alemã (vide Freitag na Histologia Patológica de Borst, no Tratado de Henke e Lubasch P. Schwartz, L. R. Müller, Hermann e vários outros, tanto antigos como modernos).

Existem porém, outros desenhistas como por exemplo Constantin, no Atlas du Cancer que não copiam exatamente o preparado. Facilitam a sua tarefa representando primeiramente a topografia das estruturas principais do mesmo, esquemati-

zando apenas ligeiramente as estruturas mais finas. Não desenham todos os diferentes planos e não procuram representar todos os pormenores do preparado, senão sòmente aqueles que fazem parte essencial da estrutura a representar. Esta é uma técnica também muito usada que preenche de um modo geral a sua finalidade. Mas, a nosso vêr tais desenhos não são perfeitamente elucidativos quando se trata de bem interpretá-los, sobretudo para os mais inexperientes no assunto desenhado. Para êstes, julgamos muitíssimo mais útil ou mesmo indispensável que encontre no desenho a expressão a mais fiel possível do preparado, para que possam fàcilmente identificá-lo depois quando do exame microscópico.

3 — *O desenho microscópico realmente esquemático*: É útil, de mais fácil execução e deve ser usado sòmente quando indicado, para finalidades didáticas, a fim de chamar a atenção sôbre determinados caracteres histológicos.

É geralmente representado por traços a nankin ou mesmo feito a aguada, com pincel. Tem em vista reproduzir apenas formas e poucos detalhes sempre esquemàticamente e não tem nem a finalidade e nem a propriedade de demonstrar verdadeiramente as estruturas finas do objeto (vide como exemplo *Diagnostique Cytologique du Cancer Genital Chez la Femme* — Raymond Burg, Claude Combel, Jean Punder — Atlas — 1954). Também em outros ramos o mesmo se aplica. Assim na Bacteriologia, o professor Otto Bier em sua *Microbiologia* — 1961 afirma ter preferido no que concerne às ilustrações, esquemas e desenhos semi-esquemáticos, geralmente mais demonstrativos do que fotografias, uma vez que em se tratando de um livro didático, não houve preocupação de documentar o texto, mas tão sòmente de facilitar-lhes a compreensão.

Não deixam entretanto, êstes desenhos, de ser uma "forma de expressão da verdade" a única aliás, concebível em um desenho de ordem puramente científica.

Regras e normas gerais para o desenho microscópico

Antes de abordarmos ainda a execução pròpriamente do desenho, desejamos abrir um parêntesis para salientar um princípio muito importante do qual não poderemos nos separar durante tôda a execução do mesmo, isto é: *A representação dos diferentes planos no desenho microscópico a noção do relevo ou profundidade.*

Quando examinamos um preparado ao microscópio, movendo o micrométrico, percebemos diferentes planos que mudam de aspecto conforme o movimento que imprimimos ao mesmo. Quando porém, focalizamos um determinado ponto ou plano e conservamos o micrométrico parado, vemos então, não sòmente êste primeiro plano focalizado, mas podemos observar também que ele se superpõe a outros planos mais profundos, dos quais alguns aparecem mais próximos, ainda com os seus contornos ligeiramente nítidos, e outros ainda mais profundos e pouco perceptíveis. A representação dêsses diferentes planos é muito importante e mesmo indispensável à realização de um desenho realmente objetivo, pois só assim podemos dar a noção do *relevo* e da *profundidade*.

O conhecimento exato do preparado

Ao começarmos um desenho microscópico, antes de mais nada devemos estudar muito bem o assunto a reproduzir, conhecer a sua estrutura e procurar saber exatamente qual a sua finalidade, isto é, o que há de mais importante a ressaltar,

pois embora se trate de um desenho mais objetivo, conforme já salientamos, não se deve trabalhar só mecânicamente. Os nossos olhos devem trabalhar como uma objetiva fotográfica, tal a exatidão que devemos observar, porém, sincronizadamente com o nosso raciocínio.

O campo escolhido deve ser bem estudado sob diversos aumentos a fim de sabermos qual deles evidencia melhor a nossa finalidade. Depois estuda-se a topografia que melhor se adapta à forma geral de conjunto que desejamos dar ao nosso desenho. Esta pode ser um círculo, um retângulo, um quadrado, etc. ou mesmo ter uma forma irregular, conforme a nossa necessidade ou desejo.

É muito importante escolher o tamanho do desenho de acôrdo com o aumento usado. Notar que um desenho panorâmico, por exemplo, difícilmente se enquadra em um campo muito pequeno, pois o nosso pincel não tem o mesmo alcance de uma objetiva de pequeno aumento.

Material

Mesa.

Lâmpada: um abat-jour cuja luz possa ser projetada sôbre a prancheta.

Microscópio: sôbre o qual falaremos adiante.

Prancheta: do tamanho aproximado de 40 x 30 cms.

Papel: o mais indicado é liso, mais opaco do que brilhante e de ótima qualidade. As marcas "Bristol" e "Cavalinho" são as mais recomendáveis para o desenho microscópico destinado a ilustração e podem também ser usados para os desenhos a lápis.

Os *lápis* pretos devem ser marca Faber n.º 1, 2 e 3.

Usam-se para os desenhos a lápis de côr as melhores marcas, e tanto os duros com ponta bem fina para os detalhes, como os moles para os fundos e traços mais grossos. É recomendável ter o maior número possível de nuances.

Tintas: as melhores para se obter uma bôa transparência são os nankins de côres e para os preparados corados pela hematoxilina e eosina, os próprios corantes, quando novos e bons.

As aquarelas transparentes também são usadas. Estas quando acondicionadas em tubos, oferecem a vantagem de conterem tintas puras e livres de mistura de outras côres. Quando novas e moles, são preferíveis aos tijolos, pois êstes ficam muitas vêzes impregnados de outra côr levada pelo pincel, o que é quase inevitável quando se misturam as tintas; todavia, pela sua duração, são muito usados.

Pinceis: devem ser de pêlo de marta legítimos, mais geralmente de forma arredondada e ponta fina, de acôrdo com o fim a que se destina. Os de forma achatada são raramente usados, devendo ser reservados sòmente para os fundos, quando necessários.

Penas: podem ser desde as mais finas até as de ponta comum de escrever, também aplicáveis em determinados casos.

Borrachas: bem moles e de boa qualidade.

Esfuminhos: de diversos tamanhos.

Palheta de porcelana.

Godets: com várias divisões para serem usados com as tintas líquidas.

Câmara clara: existem várias e boas e de simples manejo, como por exemplo a Nachet (franceza) a Zeiss (alemã) e outras.

· *Microscópio*: para o desenho se devem usar os microscópios mais aperfeiçoados, pois êstes auxiliam mais a evidenciar os detalhes. Para o início, um microscópico binocular de padrão regular, já presta bons serviços. O aluno deve se familiarizar bem com o mesmo, procurando adquirir prática em maneja-lo, mesmo nas suas operações mais simples, como trocar as oculares e objetivas, a abrir e fechar o diafragma, levantar e abaixar o condensador, acertar a focalização e iluminação, usar o macro e o micrométrico, etc.

A prática no manuscio do microscópio, póde, a nosso vêr, ser adquirida pelo uso diário dêsse aparelho, uma vez que sejam observadas as devidas precauções recomendadas em todos os laboratórios.

Com relação pròpriamente ao seu conhecimento mais detalhado, êste é um assunto que não cabe neste pequeno trabalho, por isso enviamos o leitor acaso interessado, às muitas descrições dos diferentes tipos e marcas de microscópios existentes tanto em livros científicos, como em quase todos os manuais de técnica microscópica para uso dos laboratórios.

Técnica do desenho microscópico em côres para documentação

O desenho microscópico em côres para documentação pròpriamente dita é na realidade um mixto de desenho e pintura, como adiante veremos, e talvez mais ainda pintura, tais os problemas verdadeiramente pictóricos com que nêle deparamos.

Pode-se iniciar o seu aprendizado como uma faze preparatória, com os desenhos a lápis de côr. Todavia, o aluno deverá observar rigorosamente tôdas as recomendações que se seguem, apenas substituindo o pincel, a pena e a tinta, pelos lápis que devem ser de boa qualidade, uns mais moles para os fundos e outros mais duros para os detalhes. Usa-se o menos possível a borracha para não ferir o papel. Êstes desenhos, porém, nunca devem ter o mesmo caráter dos chamados didáticos, isto é, semi-esquemáticos, pois isso disvirtuaria e viciaria aquêle que se propusesse justamente a reproduzir um preparado. Conforme atrás assinalamos, o desenho didático é utilíssimo apenas para o aprendizado de histologia, das ciências biológicas, médicas, etc.

Nós, pessoalmente, aconselhamos iniciar o aprendizado do desenho microscópico para ilustração já com tinta, pincel e pena.

Em uma mesa estável, coloca-se o microscópio, tendo a prancheta à direita e um abat-jour cuja luz possa ser projetada sôbre a mesma.

Coloca-se na prancheta, preso por taxas, um pedaço de papel de desenho do tamanho apropriado. Marca-se ao lado da zona a ser desenhada, o n.º e indicações do preparado, da ocular, objetiva e a marca do microscópio. Assinala-se sôbre a lamínula, com tinta de escrever e pena bem fina, o campo escolhido, fixando-se a lâmina ao microscópio.

Tomaremos para começar um campo inteiro do microscópio, ao contrário de iniciarmos o aprendizado com uma área mais restrita ou mesmo com uma só célula como poderia à primeira vista parecer mais fácil e indicado; se por um lado reproduzir um campo inteiro parece mais complicado, por outro lado essa técnica nos oferece certas facilidades, como por exemplo, a sua limitação natural e a possibilidade de encaixá-lo dentro de um círculo igual no papel e dividí-lo em

diferentes partes, o que nos impede os erros de proporção etc., facilitando também a localização da conformação das figuras principais.

Para o principiante é muito difícil, entre os vaevem dos olhos, do microscópio para o papel, localizar, sem um limite préestabelecido um determinado trecho dentro de um campo grande. Só com a prática se consegue êste objetivo.

Antes de iniciarmos o esbôço, devemos estudar o campo escolhido em seus diferentes planos, preferindo aquêle que mais evidencia aquilo que é mais importante salientar. Uma vez escolhido o plano que vai ser desenhado, não mais se toca no micrométrico durante o trabalho que se segue para não mudar o plano. Sòmente se usará o micrométrico, quando necessário, no decorrer do desenho, para tirar qualquer dúvida sôbre sombras vistas em planos mais profundos que podem tanto ser artefatos de técnica que neste caso não devem ser reproduzidos, como também células ou outros detalhes que se encontram em vários planos. Êstes deverão ser representados, porém, sòmente como são vistos no plano escolhido; é necessário, pois, sempre que se mover o micrométrico, tomar o cuidado de reencontrar o plano que está sendo desenhado. Esta observação é muito importante, pois, um bom desenho jamais poderá ser executado, como já dissemos, focalizando-se diferentes planos ao mesmo tempo, o que daria uma imagem confusa e inexata do preparado. É portanto, necessário estar sempre vigilante durante a execução do desenho, para que o micrométrico não se desloque com qualquer trepidação, levando o desenhista menos experiente a reproduzir insensìvelmente um plano diferente do primeiro escolhido, ou, pior ainda, reproduzir ora um ora outro.

As 4 etapas do desenho microscópico

Geralmente executa-se o desenho em quatro etapas, conforme exemplificamos na fig. 1.

A nossa experiência também nos convenceu da vantagem dêsse método, porém com pequenas variações. Assim, em muitos casos, adotamos as técnicas de divisão em 4 etapas, mas do modo que procuramos representar em nosso desenho da fig. 2.

Para o primeiro modêlo, desenha-se primeiramente levemente um círculo de tamanho escolhido que se divide com um leve traço a lápis prêto n.º 3, em 4 partes iguais. Procura-se fazer o mesmo com linhas imaginárias (não esquecer nunca estas linhas no decorrer do trabalho) no campo do microscópio. Esta operação já por vários autores usada, auxilia bastante a fim de serem conservadas as mesmas proporções, quando se deseja reproduzir o campo inteiro como é o caso que tomamos por modêlo.

Para começar, tomamos como exemplo um tecido glandular normal (glândulas gástricas da região pilórica), corado pela hematoxilina e eosina, visto sob forte aumento (objetiva 40, ocular 10) (Fig. 1). O fundo é constituído por tecido conetivo intersticial que se vê corado em róseo pela eosina, variando em nuances, destacando-se os núcleos em azul, corados pela hematoxilina.

Destacam-se os ácinos glandulares como motivo principal, formados pelo epitélio glandular constituído por células altas, cilíndricas ou cúbicas, cujo citoplasma é corado em róseo, ligeiramente basófilo, percebendo-se levemente as granulações citoplasmáticas. Os núcleos são de um azul arroxeado e aparecem contornados por um halo mais escuro, deixando ver em sua estrutura, pequenas granulações de cromatina.

Antes ainda de começar o esbôço, procura-se objetivar bem a sua topografia em relação ao círculo.

1.ª etapa: com lápis faber n.º 3 de ponta bem fina, marca-se esquemàticamente, encaixando dentro das respectivas divisões de círculo, a configuração principal do campo escolhido. Verifica-se depois a sua exatidão, tirando-se o aspecto mais esquemático, pelo acréscimo de alguns poucos detalhes (vide 1.ª etapa, fig. 1).

2.ª etapa: observam-se então muito bem ao microscópio as diferenças de côres e a escala de valores de intensidade das mesmas. É indicado neste caso, fazer primeiramente o fundo róseo (com eosina bem diluída em água ou tinta nankin carmin) do conetivo com suas nuances, respeitando os claros em tôrno das glândulas e deixando para fazer os núcleos das células em azul. Notar que se deve sempre partir do mais claro para o mais escuro, sòmente em certos casos, os desenhistas mais arrojados fazem o contrário. Nunca se usa de uma vez a *intensidade* exata. Procura-se sim a côr exata, porém, sempre mais clara do que aquela que se vê ao microscópio. É importante aqui não confundir *intensidade da côr* com *diferença da côr*.

Repete-se a operação e se não se consegue a intensidade desejada, usa-se tinta um pouco mais forte.

Os claros devem ser rigorosamente respeitados.

3.ª etapa: passa-se agora a trabalhar nas figuras mais salientes, isto é no caso da nossa lâmina, glândulas, usando-se ainda a mesma técnica do fundo, porém, com a côr rósea ligeiramente misturada com a azul (a própria hematoxilina ou o azul ultramarino do nankin) para fazer sobressair o citoplasma das células do epitélio glandular, podendo-se já, com um pincel bem fino ou pena, assinalar ligeiramente, se necessário, a sua junção, limites e algumas nuances mais delicadas.

Deve-se fazer aqui uma pequena pausa a fim de descansar a vista e prepará-la para uma revisão da parte do trabalho já executado.

Concentra-se a atenção na avaliação da intensidade dos tons róseos e seus contrastes, em confronto com o original, fazendo-se os retoques necessários.

Nesta altura, deve-se começar a assinalar os núcleos dos planos mais profundos, primeiro levemente, com pena bem fina, fazendo-se os contornos e enchendo-os com as côres de fundo dos mesmos, ora mais escuros, ora mais claros. Observa-se, com cuidado a tonalidade relativa entre fundo dos núcleos feitos a pincel e as granulações à pena, isto é, notando que os núcleos mais claros, vistos em planos mais profundos, têm também contornos mais claros, quando êstes são visíveis.

4.ª e última etapa: finalmente, após um exame acurado feito comparativamente entre o preparado e o desenho, apura-se a avaliação de intensidade dos roxos, seus grandes e pequenos contrastes e as leves sombras correspondentes aos planos mais profundos.

Desenham-se então os núcleos do primeiro plano.

Por último, tomando-se uma pena finíssima, chega-se aos últimos detalhes, reavivando traços, etc. e assinalando as granulações da cromatina nuclear, etc.

A fig. 2, como dissemos, mostra-nos um exemplo de uma das variações, por nós adotada em determinados casos, da técnica do desenho em um campo restrito, porém, sempre em 4 etapas.

Trata-se de um trecho de epitélio respiratório colorido pela hematoxilinaeosina.

Na *1.ª etapa* vemos o esbôço a lápis. Na *2.ª* o mesmo esbôço, já feito fracamente a nankin. Apagam-se então bem, com borracha mole, os restos visíveis do esbôço a lápis.

Na *3.ª etapa* pintam-se a pincel, levemente, os fundos, isto é, os citoplasmas e o tecido conetivo com os sombreados correspondentes. Finalmente na *4.ª etapa* fazem-se todos os detalhes, tanto dos planos mais profundos, como do primeiro plano.

Esta é pois apenas uma pequena variação de um desenho mais ou menos do tipo da fig. 1.

Entretanto, a diversidade dos motivos que se nos apresentam, obrigam-nos a vários métodos adequados para obter determinados efeitos, conforme a estrutura dos tecidos que devemos reproduzir. Vide legenda das figs. 3, 4 e 5.

Desenho Panorâmico com fraco aumento

É recomendável só abordar êsse tipo de desenho, após muita prática. Para abreviar a sua execução, muitos preferem usar para o esbôço a câmara clara.

Após a primeira etapa, de esbôço, pode-se, para facilitar, fazer cada secção isoladamente até as suas últimas etapas, mas sempre obedecendo a mesma ordem e a mesma técnica, atrás referidas.

Técnica do desenho em branco e prêto

Se o trabalho é em branco e prêto, temos de um lado a facilidade de tratar com uma só tinta, mas de outro a dificuldade, já por nós mencionada, de necessitar distinguir bem o valor da intensidade dos tons, não confundindo êste caráter com as diferenças de côres.

Quando nos propomos a reproduzir um preparado microscópico em branco e prêto, devemos pois, nos abstrair das diferenças das côres, levando em conta sòmente os claro-escuros, isto é, aquilo que se compreende por diversa intensidade nos tons.

Vencida esta dificuldade, adota-se a mesma técnica do desenho a côres.

Resumo

É inicialmente salientada a importância do desenho microscópico como meio de documentação nas ciências morfobiológicas, chamando a atenção sôbre a necessidade da sua aplicação mais freqüente entre nós.

Salienta o uso dêsse tipo de documentação comum em muitos países da Europa e na América do Norte e tanto na literatura antiga, como em obras as mais recentes, conforme exemplifica.

Sem menosprezar o valioso auxílio da fotomicrografia, chama a atenção entretanto, para as desvantagens desta em muitos casos, de um lado devido a defeitos intrinsecos aos próprios films atualmente usados, e, de outro devido a defeitos nos próprios preparados, os quais são reproduzidos automàticamente, o que limita a sua aplicação.

Ressalta a vantagem do desenho microscópico em muitos casos, demonstrando com exemplos, como êste se torna frequentemente indispensável.

Descreve os diferentes típos de desenhos microscópicos e as suas indicações.

Exalta a necessidade do preparo prévio tanto técnico como científico geral para aqueles que pretendem se dedicar a êsse típo de desenho.

Dada a ausência de cursos dêsse gênero de desenhos em nosso país, a autora reune nesta pequena monografia a sua experiência sôbre o assunto, procurando expôr minuciosamente a técnica do aprendizado do desenho microscópico aplicado á documentação científica. Chama a atenção para certas regras e normas que julga serem indispensáveis á boa execução de um desenho dessa espécie, tais como: 1) *a representação dos diferentes planos* no desenho microscópico levando á *noção do relevo ou profundidade.* 2) Necessidade do *estudo prévio e conhecimento exato do preparado.*

Tendo em vista essas finalidades, utiliza no decorrer do trabalho, figuras demonstrativas não só sôbre as diferentes fases da execução do desenho microscópico, como sôbre as diversas técnicas aplicáveis nos mesmos, segundo o objeto a ser reproduzido.

Bibliografia

Borst, M. — Histologia Patológica. *Trad. 3.ª Ed. Alemã...Edit. Labor, S.A.,* Barcelona. 1945.

Buecherl, W. — Técnica Histológica. *2.ª Ed., Edit. Polígono Ltda.,* S. Paulo, 1962.

Costa, C. & Chaves, P. R. — Manual de Técnica Histológica. *3.ª Ed.,* Lisboa, 1943.

Costa, A. C. da — Tratado Elementar de Histologia e Anatomia Microscópica. *2 v. 214, 2.ª ed.,* Lisboa, 1949.

Ham, A. W. — Tratado de Histologia. *3.ª ed. hesp. Ed. Interamerie. S.A.,* México, 1958.

Hueck, W. — Patologia Morfológica. *Edit. Labor, S.A.,* Barcelona, 1944.

Krause, R. — Kursus der Normalen Histologie. *Ed. Urban & Schwarzenberg,* Berlim, Wien, 1911.

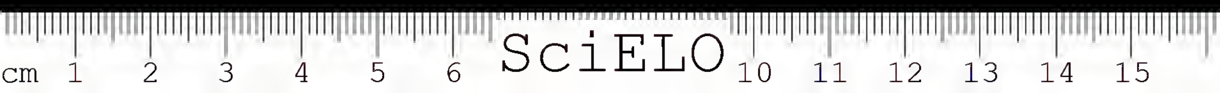
Lubarch, O., Henke, F. & Roessle, R. — Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histogie. *Vol. 13 Nervensystem von Scholz, W. Parte A.,* Springer, Verlag, Berlim, 1956.

Mc Larty, M. C. — Illustrating Medicine and Surgery. *Livingstone Ltd.,* Edinburgh, 1960.

Maximow, A. A. & Bloom, W. — A Text Book of Histology. *7th ed. Saunders Co.,* London, 1957.

Schumacher, M. — Compendio de Histologia Humana. *3.ª ed. Espanhola Edt. Labor, S.A.,* Barcelona, 1948.

Spielmeyer, W. — Histopathologie des Nervensystems. *1.º vol. Springer,* Berlim, 1922.



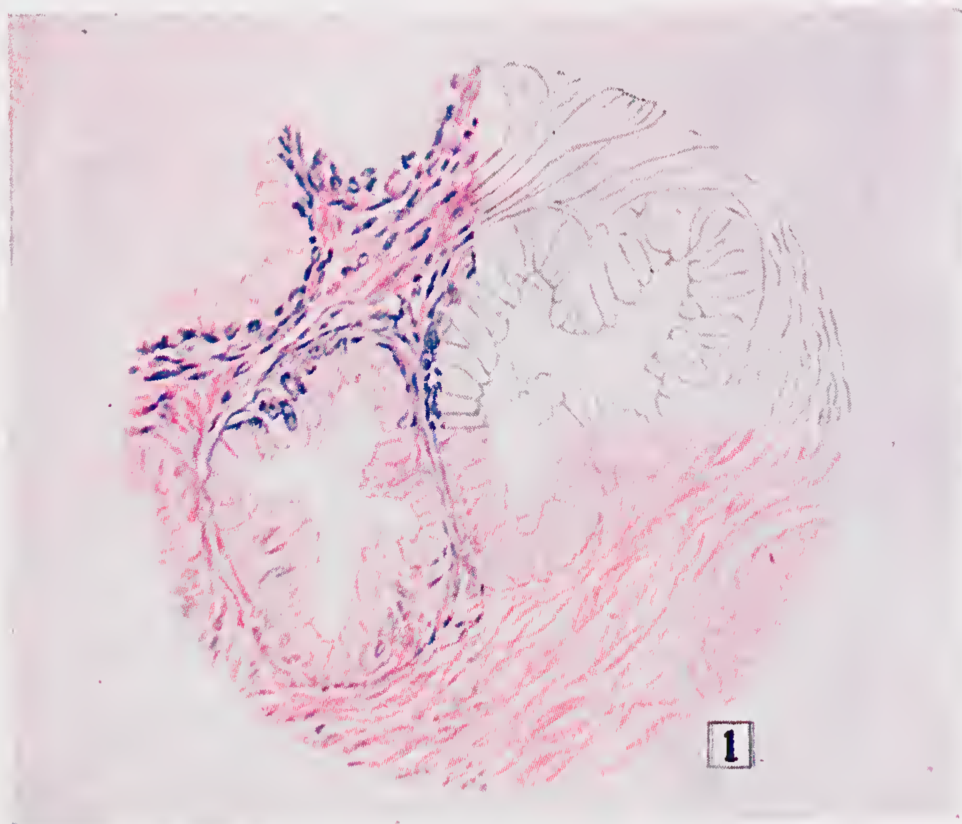


Fig. 1 — Tecido glandular normal (estômago). Col. H.E. — Microsc. Zeiss — Ocul. 10 — Obj. 40. As 4 etapas do desenho microscópico (descrição no texto, página).

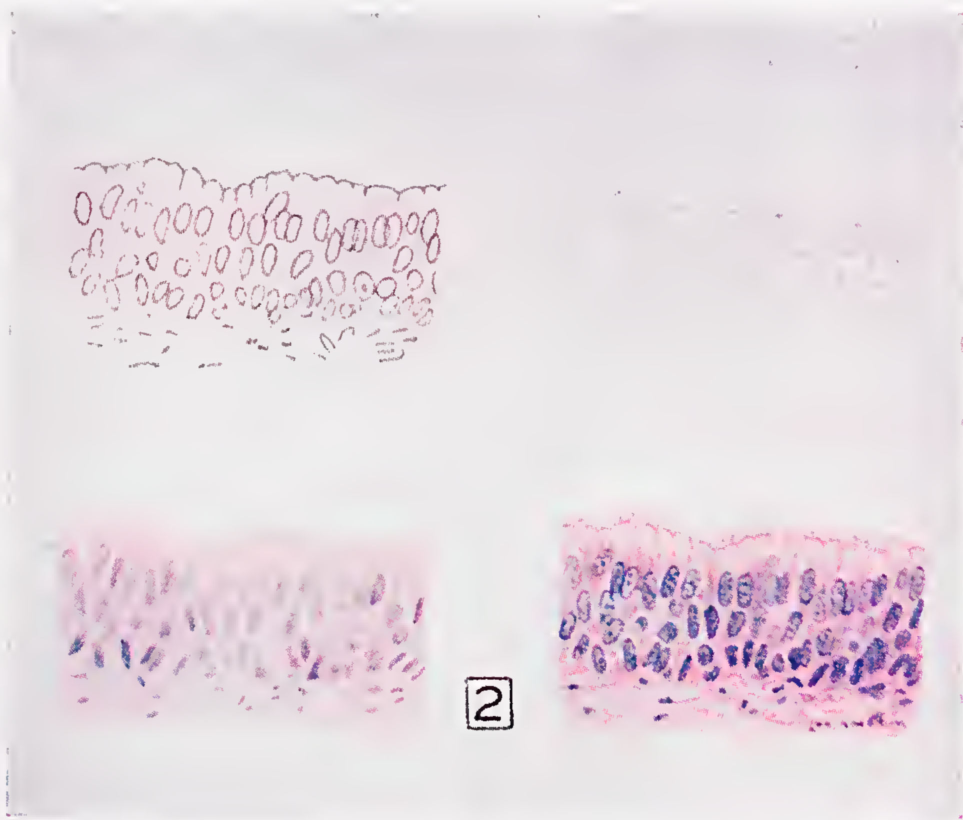


Fig. 2 — Epitélio cilíndrico estratificado ciliado. Col. H.E. — MicrCosc. Zeiss — Ocul. 10 — Obs. 40. Outra modalidade do desenho microscópico também em 4 etapas (descrição no texto, página).

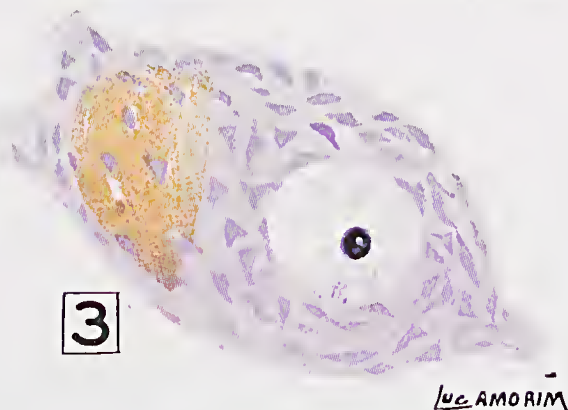


Fig. 3 — Célula nervosa: Coloração pelo método de Nissl. Notar no citoplasma os pigmentos de lipofucsina feitos a bico de pena, bem como a levíssima e delicada estrutura nuclear vista por êsse método. Microsc. Zeiss — Ocul. 10 — Obj. 40.

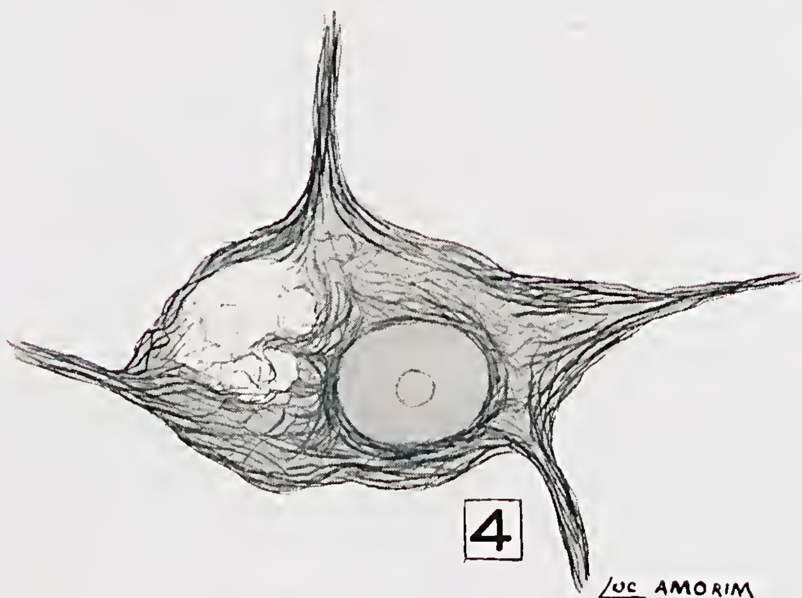
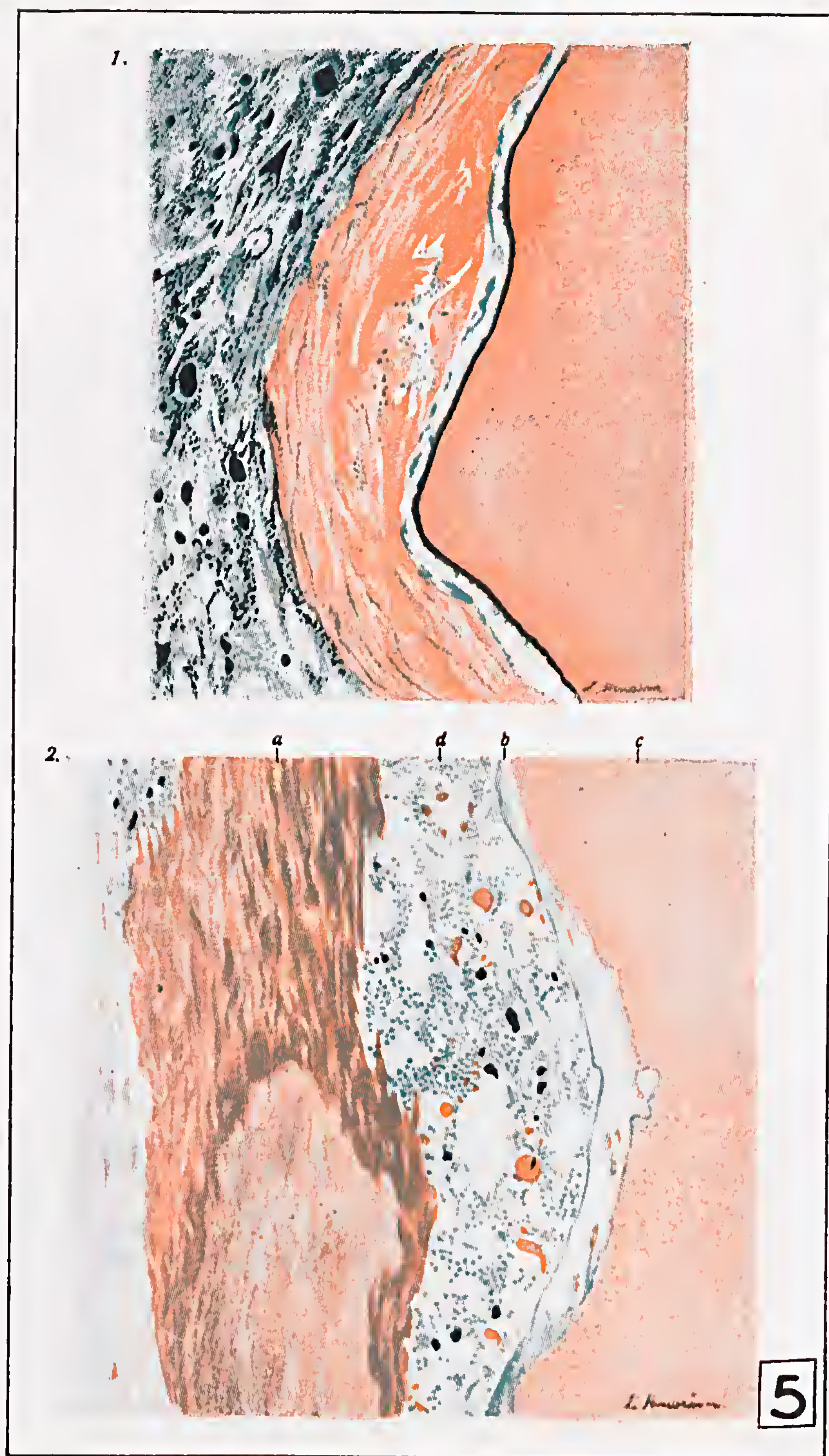


Fig. 4 — Célula nervosa: Impregnação pela prata pelo método de Bielschowski. Notar no citoplasma bem como nos prolongamentos, as fibrilas reproduzidas em seus diferentes planos. Microsc. Zeiss — Ocul. 10 — Obj. 40.

Fig. 5 — Dois desenhos publicados na Alemanha em um trabalho de M. de Freitas Amorim sôbre *Beitrag zur Histhopathologie der fortgeschrittenen Stadien der phthisischen Primärkomplexe* (Beitr. Pathol. Anat. 95:349-381, 1935) os quais reproduzem a estrutura de nódulos do complexo primário tuberculoso, caseificados e encapsulados, corados pelo Escarlate R, em cortes obtidos por congelação. A fim de reproduzir o aspecto finamente granuloso das áreas de necrose de caseificação, coloridas pela Escarlate R, e da mesma forma na cápsula fibrosa-hialina dos nódulos de C.P.T., tivemos que adotar a técnica de pontilhado finíssimo feito a bico de pena. Conforme se percebe, o pincel só foi usado para dar uma leve coloração de fundo, sôbre a qual trabalhamos com a pena. As gôtas grandes de gordura reproduzindo as próprias células adiposas do tecido mielo-símile do N.R.C.P., foram feitas com pequenas gôtas de Nankin apenas depositadas pelo pincel.

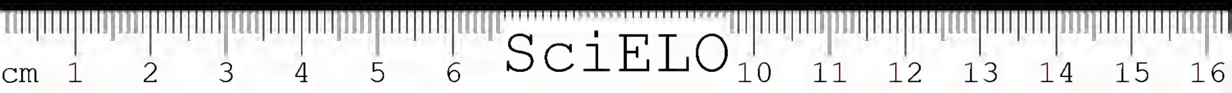
Beiträge z. path. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XCV.

Taf. XX



Amorim, Phthisischer Primärkomplex.

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

REMISSIVE LIST OF PAPERS PUBLISHED IN "MEMORIAS DO INSTITUTO BUTANTAN"

VOLUMES 1 TO 33 (1918-1966)

The "Memorias do Instituto Butantan" are being published since 1918, and up to the present date 33 volumes with 725 papers were printed.

The purpose of this list is to indicate an easy reference for the published papers, for most of them constitute fundamental basic scientific acquisition. However, the fact those publications being edited by a São Paulo State governmental Institution, has difficulted sometimes the regular scientific work reference distribution through International organs, the more so, because the "Memorias" publish articles on experimental works as well as on systematics in many scientific investigation fields.

Index consultation in each volume would be a tiresome and difficult task, and we had the opportunity to prove that topics still discussed on certain classical notions do not take into account investigations and elucidating work already done and published in "Memórias do Instituto Butantan".

In order to make the search for references easier, the articles were grouped in chapters, assembling general subjects, since a simple author index or a chronological order would not be suitable. This grouping sometimes had to be rather arbitrary, and from now on, we accept as justified any criticism which may be done by whoever will make use of this list.

The Editorial Committee

Ofidios

Sistemática

7. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos. XXII. Sôbre a espécie Coluber dichrous (Peters) Boulenger, 1894, *Mem. Inst. Butantan*, 4:331, 1929.

8. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos. XXVIII. Commentários a propOsito de alguns boideos, *Mem. Inst. Butantan*, 6:173, 1931.

9. *Amaral, A. do* — Studies of neotropical ophidia. XXVIII. Remarks on some boid snakes, *Mem. Inst. Butantan*, 6:183, 1931.

10. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre Lacertilios neotrópicos. I. Novos gêneros e espécies de lagartos do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 7,51, 1932.

11. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. V. Uma nova raça de Bothrops neuwiedii. *Mem. Inst. Butantan*, 7:95, 1932.

12. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. VI. Uma nova raça de Bothrops neuwiedii, *Mem. Ints. Butantan*, 7:95, 1932. 1830, *Mem. Inst. Butantan*, 7:99, 1932.

13. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos. XXIX. Novas notas sôbre espécies da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 7:103, 1932.

14. *Amaral, A. do* — Estudos sôôbre ophidios neotrópicos. XXX. Novo gênero e espécie de Colubrideo na fauna da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 8: 157, 1933-34.

15. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotropicos. XXXI. Sôbre a espécie Bothrops alternata D. & B., 1854 (Crotalidae). Variações. Redescripção, *Mem. Inst. Butantan*, 8:161, 1933-34.

16. *Amaral, A. do* — Collecta herpetologica no nordeste do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 8:183, 1933-34.

17. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos. XXXII. Apontamentos sôbre a fauna da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 9:209, 1935.

18. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotropicos. XXXIII. Novas espécies de ophidios da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan*, 9:219, 1935.

19. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. VII. Novos gêneros e espécies de Colubrideos ophisthoplyphos, *Mem. Inst. Butantan*, 9:203, 1935.

20. *Amaral, A. do* — Collecta herpetologica no nordeste do Brasil (Contribuição II), *Mem. Inst. Butantan*, 9:225, 1935.

21. *Amaral, A. do* — Collecta herpetologica no centro do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 9:233, 1935.

22. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre Lacertilios neotrópicos. II. Nôvo gênero e espécie de lagarto do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 9:249, 1935.

23. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre Lacertilios neotrópicos. III. Um nôvo gênero e duas novas espécies de Geckonideos e uma nova raça de Amphisbenideo, procedentes do Brasil Central, *Mem. Inst. Butantan*, 9:253, 1935.

24. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. VIII. Lista remissiva dos ophidios do Brasil (2.ª edição), *Mem. Inst. Butantan*, 10: 87, 1935-36.

25. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre Lacertilios neotrópicos. IV. Lista remissiva dos Lacertilios do Brasil, *Mem. Inst. Butantan*, 11:167, 1937.

26. *Amaral, A. do* — Contribuição aos conhecimentos dos ophidios do Brasil. IX. Nova espécie de Colubrideo opisthoglypho confundivel com Philodryas serra (Schlegel 1837), *Mem. Inst. Butantan,* 11:205, 1937.

27. *Amaral, A. do* — Contribuição aos conhecimentos dos ophidios do Brasil. X. Redescripção de Philodryas serra (Shlegel, 1837), *Mem. Inst. Butantan,* 11: 213, 1937.

28. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil. II. Synopse das Crotalideas do Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* 11:217, 1937.

29. *Amaral, A. do* — Estudos sôbre ophidios neotrópicos, XXXIV. Novas notas sôbre a fauna da Colômbia e descripção de uma espécie nova de Colubrideo aglypho, *Mem. Inst. Butantan,* 11:231, 1937.

30. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofídios do Brasil. XII. Notas a respeito dc Helminthophis ternetzii Boulenger, 1896, *Mem. Inst. Butantan,* 26:191, 1954.

31. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofídios neotrópicos. XXXVII. Subespécies de Epicrates cenchria (Lineu, 1758), *Mem. Inst. Butam,* 26:227, 1954.

32. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofídios do Brasil. XIII. Observações a propósito de "cobra-cegas" (fam. Typhlopidae e fam. Leptotyphlopidae), *Mem. Inst. Butantan,* 26:197, 1954.

33. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofídios do Brasil. XIV Descrição de duas espécies novas de Cobra "cega" (fam. Leptotyphlopidae), *Mem. Inst. Butantan,* 26:203, 1954.

34. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofídios do Brasil. XV. Situação taxonômica de algumas formas de Crotalidae Lachesinae recentemente descritas, *Mem. Inst. Butantan,* 26:215, 1954.

35. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofícios neotrópicos. XXXV. A propósito da revalidação de Coluber lanceolatus Lacepede, 1789, *Mem. Inst. Butantan,* 26:207, 1954.

36. *Amaral, A. do* — Contribuição ao conhecimento dos ofídios neotrópicos. XXXVI. Redescrição da espécie Bothrops hyoprora Amaral, 1935, *Mem. Inst. Butantan,* 26:221,1954.

37. *Belluomini, H. E. & Hoge, A. R.* — Uma nova espécie de Bothrops do Brasil. (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan,* 28:195, 1957-58.

38. *Brongersma, L. D.* — Poisonous snakes of Surinam, *Mem. Inst. Butantan,* 33 (1):73, 1966.

39. *Gomes, F. J.* — Contribuição para o conhecimento dos ofídios do Brasil, III. *Mem. Inst. Butantan,* 1:57, 1918.

40. *Hoge, A. R.* — Um nôvo lagarto da Ilha da Queimada Grande, *Mem. Inst. Butantan,* 19:241-248, 1946.

41. *Hoge, A.* — Notas erpetologicas. 3. Uma nova espécie de Trimeresurus, *Mem. Inst. Butantan,* 20:193-202, 1947.

42. *Hoge, A. R.* — Notas erpetologicas. 7. Fauna erpetologica da Ilha da Queimada Grande, *Mem. Inst. Butantan,* 22:151-172, 1949.

43. *Hoge, A. R.* — Snakes from the Uapés region, *Mem. Inst. Butantan,* 24:(2), 225, 1952.

44. *Hoge, A. R.* — Notas erpetologicas. 1.ª Contribuição ao conhecimento dos Ofídios do Brasil Central, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):179, 1952.

45. *Hoge, A. R.* — Notas erpetológicas. 2.ª Contribuição ao conhecimento dos ofídios do Brasil Central, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):215, 1952.

46. *Hoge, A. R.* — Notas erpetológicas. Revalidação de Thamnodynastes strigatus (Günther, 1858), *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):157, 1952.

47. *Hoge, A. R.* — Notas erpetológicas. Contribuição ao conhecimento dos Testudinata do Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):173, 1952.

48. *Hoge, A. R.* — Notas erpetológicas. Revalidação de Bothrops lanceolata (Lancepede), *Mem. Inst. Butantan,* 24(2): 231, 1952.

49. *Hoge, A. R.* — Notas erpetológicas. Anomalia na lepidose e pigmentação das escamas dorsais em B. jararaca e B. alternata, *Mem. Inst. Butantan,* 24 (2),237, 1952.

50. *Hoge, A. R.* — Notas erpetológicas. Uma nova subspecie de Leimadophis reginae, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):241, 1952.

51. *Hoge, A. R.* — Notes on Lygophis Fitzinger. Revalidation of two subspecies, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):245, 1952.

52. *Hoge, A. R.* — A new Bothrops from Brasil. Bothrops Brazili, sp. nov., *Mem. Inst. Butantan,* 25(1):15, 1953.

53. *Hoge, A. R.* — A new genus and species of Boinae from Brazil. Xenoboa cropanii, gen. nov. sp. nov., *Mem. Inst. Butantan,* 25(1):27, 1953.

54. *Hoge, A. R.* — Uma nova espécie de Micrurus (Serp. Elap.) do Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* 27:67, 1955-56.

55. *Hoge, A. R.* — Notes sur la position systematique de Opisthoplus degener Peters 1882 et Leimadophis regina macrosoma Amaral 1935 (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan,* 28:67, 1957-58.

56. *Hoge, A. R.* — Étude sur Apostolepis coronata (Sauvage 1877) at Apostolepis quinquelineata Boulenger 1896 (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan,* 28:73, 1957-58.

57. *Hoge, A. R.* — Étude sur Uromacerina ricardinii (Paracca) (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan,* 28:77, 1957-58.

58. *Hoge, A. R.* — Note sur la position systematique de Trigonocephalus (Bothrops) pubescens Cope 1869, *Mem. Inst. Butantan,* 28:83, 1957-58.

59. *Hoge, A. R.* — Sur la position systematique de Coluber quinquelineatus Radii, 1820, *Mem. Inst. Butantan,* 28:267, 1957-58.

60. *Hoge, A. R.* — Posição sistemática de Natrix sexcarinatus Wagler 1824 Serpentes, *Mem. Inst. Butantan,* 30:27, 1966-61-62.

61. *Hoge, A. R.* — Notas sôbre Xenopeltis unicolor (Reinwardt) 1827, *Mem. Inst. Butantan,* 30:31, 1960-61-62.

62. *Hoge, A. R.* — Sur la position systematique de quelques serpents du genre Siphlophis Fitzinger 1843. W. Serpentes, *Mem. Inst. Butantan,* 30:35, 1960-1961-1962.

63. *Hoge, A .R.* — Serpentes da Fundação "Surinam Museum", *Mem. Inst. Butantan,* 30:51, 1960-61-62.

64. *Hoge, A. R.* — Notes sur Xenodon schottii Schlegel, *Mem. Inst. Butantan,* 30: 65, 1960-61-62.

65. *Hoge, A. R.* — Preliminary account on neotropical Crotalinae (Serpentes Viperidae), *Mem. Inst. Butantan,* **32**:109, 1965.

66. *Hoge, A. R. & Belluomini, H. E.* — Serpentes coletadas em Jacareacanga, Estado do Pará, Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* **29**:15, 1959.

67. *Hoge, A. R. & Belluomini, H. E.* — Notas sôbre Bothrops fonsecai Hoge e Belluomini, Bothrops alternatus Dumeril, Bibron et Bothrops cotiara Gomes, *Mem. Inst. Butantan,* **30**:97, 1960-61-62.

68. *Hoge, A. R. & Garcia, A.* — Notas erpetológicas. 5. Notas sôbre Elapomorphus nasutus Gomes, 1915, *Mem. Inst. Butantan,* **21**:67-76, 1948.

69. *Hoge, A. R. & Lancini, A. R.* — Notas sôbre Micrurus surinamensis nattereri Schmidt, *Mem. Inst. Butantan,* **29**:9, 1959.

70. *Hoge, A. R. & Nina, A. C. M.* — Serpentes coletadas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia, *Mem. Inst. Butantan,* **30**:71, 1960-61-62.

71. *Hoge, A. R. & Romano, S. A. R. W. D. L.* — Leptomicrurus in Brasil (Serpentes — Elapidae), *Mem. Inst. Butantan,* **32**:1, 1965.

72. *Lancini, V., A. R.* — Notas sôbre as diferenças existentes entre as sub-espécies venezuelanas de Coluber (Masticophis) mentovarius (Dum. Bibr. et Dum. 1854), *Mem. Inst. Butantan,* **32**:9, 1965.

73. *Latifi, M., Hoge, A. R. and Eliazan, M.* — The poisonous snakes of Iran, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(3):735, 1966.

74. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. I. Sôbre as serpentes do grupo Bothrops lansbergii, com a descrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan,* **12**: 1, 1938-39.

75. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 2. Observações sôbre os ofídios da fauna amazônica, com a descrição de um nôvo gênero e espécie, *Mem. Inst. Butantan,* **13**:1, 1939.

76. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 4. Cinco espécies novas de serpentes colombianas do gênero Atractus Wagler, *Mem. Inst. Butantan,* **13**:15, 1939.

77. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 5. Observações sôbre serpentes da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:1, 1940.

78. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 6. Uma nova espécie de Colubrídeo aglifo da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:13, 1940.

79. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 7. Sôbre a determinação de Elapomorphus Boulenger e afins, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:19,1940.

80. *Prado, A.* — Nota Ofiológicas. 8. Dois novos Atractus da Colômbia, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:25, 1940.

81. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 10. Outras serpentes da Colômbia, com a descrição de uma nova espécie de Boideo, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:35, 1940.

82. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 11. Sôbre uma raça de serpente neotrópica, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:373, 1941.

83. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 12. Considerações em torno de dois Atractus da Colômbia com a descrição de uma nova espécie, *Mem. Ins. Butantan,* **15**:377, 1941.

84. *Prado, A.* — Notas Ofidiológicas. 13. Redescrição de duas serpentes colombianas, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:1, 1942.

85. *Prado, A.* — Notas Ofidiológicas. 14. Comentários acêrca de algumas serpentes opistoglifas, do gênero Apostolepis, com a descrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:7, 1942.

86. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 15. Serpentes do gênero Dryophylax, com a redescrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:1, 1943.

87. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 17. A posição do gênero Rhadinaea em sistemática, com a descrição de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:11, 1943.

88. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 18. A posição do gênero Rhadinaea em sistemática (Continuação), *Mem. Inst. Butantan,* **18**:105-108, 1944-45.

89. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 19. Atractus da Colômbia, com a redescrição de três novas espécies, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:109-114, 1944-45.

90. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 20. Descrição do alotipo de Dryophylax rutilus Prado, 1942, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:189-192, 1947.

91. *Prado, A. & Hoge, A. R.* — Notas Ofiológicas. 21. Observações sôbre serpentes do Peru, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:283-296, 1947.

92. *Stanic, M.* — Die Sandotter, Vipera ammodytes ammodytes Linnaeus, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(3):745, 1966.

93. *Lancini, V. A. R.* — Crotalus vegrandis Klauber, redescripción y distribución, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(3):725, 1966.

Ofídios

Biologia

94. *Amaral, A. do* — Notas sôbre chromatismo de ophidios. I. Primeiro caso de erythrismo em serpentes observado no Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:75, 1932.

95. *Amaral, A. do* — Notas sôbre chromatismo de ophidios. II. Casos de variação de colorido de certas serpentes, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:81, 1932.

96. *Amaral, A. do* — Contribuição à biologia dos ophidios do Brasil. III. Hábitos curiosos da espécie Tachymenis brasiliensis Gomes (Colubridae, Boiginae), *Mem. Inst. Butantan,* **7**:89, 1932.

97. *Amaral, A. do* — Contribuição à biologia dos ophidios do Brasil. IV. Sôbre um caso de necrophilia heterologa na jararaca (Bothrops jararaca), *Mem. Inst. Butantan,* **7**:93, 1932.

98. *Amaral, A. do* — Notas sôbre chromatismo de ophidios. III. Um caso de xanthismo e um nôvo de albinismo, observados no Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:149, 1933-34.

99. *Amaral, A. do e Klobusitzky, D. von* — Hemagglutininas naturaes no sangue de serpentes e de outros animais pecilothermicos, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:179, 1932.

100. *Bailey, J. R.* — Modes of evolution in New World opisthoglyph snakes, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(1):67, 1966.

101. *Belluomini, H. E.* — Bicefalia em Xenodon merremii, (Wagler 1824) (Descrição de um Teratódimo derodimo) (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan,* **28**: 85, 1957-58.

102. *Belluomini, H. E.* — Venon production of snakes in captivity, *Mem. Inst. Butantan,* **32**:79, 1965.

103. *Belluomini, H. E. & Hoge, A. R.* — Um caso de cópula heteróloga entre Bothrops e Crotalus (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan,* 28:91, 1957-58.

104. *Belluomini, H. E. & Hoge, A. R.* — Operação cesariana realizada em Eunectes murinus (Linnaeus 1758) (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan,* 28:187, 1957-58.

105. *Belluomini, H. E. & Hoge, A. R.* — Observações sôbre hábitos alimentares de "Sucuris" em cativeiro. Contribuição à biologia de Eunectes murinus (Linnaeus 1758) (Serpentes), *Mem. Inst. Butantan,* 28:207, 1957-58.

106. *Belluomini, H. E. & Lancini, A. R.* — Bicefalia em Leptodeira annulata ashmeadii (Hallowell) 1845 (Serpentes) Descrição de um teratódimo deródimo, *Mem. Inst. Butantan,* 29:175, 1959.

107. *Belluomini, H. E., Nina, A. F. M. & Hoge, A. R.* — Contribuição à biologia do gênero Eunectes Wagler, 1830 (Serp. Boidae). Estudo de seis ninhadas de "sucuris", *Mem. Inst. Butantan,* 29:165, 1959.

108. *Darevsky, I. S.* — Ecology of rock-viper (Vipera xanthina raddei Boettger) in the natural surroundings of Armenia, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):81, 1966.

109. *Dourado, L.* — Contribuição aos processos de fixação do colorido vermelho e verde das serpentes brasileiras, *Mem. Inst. Butantan,* 21:137-144, 1948.

110. *Erhart, M. B.* — Atérias coronarias cardiacas dos ophidios, *Mem. Inst. Butantan,* 9:319, 1935.

111. *Erhart, M. B.* — The coronary cardiac arteries of snakes, *Mem. Inst. Butantan,* 9:335, 1935.

112. *Hoge, A.* — Notas erpetológicas. 2. Dimorfismo sexual nos Boídeos. *Mem. Inst. Butantan,* 20:181-188, 1947.

113. *Hoge, A. R.* — Herpetologische Notizen. Farbenaberrationen bei Brasilianiscen Schlangen, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):269, 1952.

114. *Hoge, A. R. & Belluomini, H. E.* — Aberrações cromáticas em serpentes brasileiras, *Mem. Inst. Butantan,* 28:95, 1957-58.

115. *Hoge, A. R. & Garcia, A.* — Notas erpetológicas. 4. Sôbre caracteres sexuais secundários nas serpentes, *Mem. Inst. Butantan,* 21:55-66, 1948.

116. *Klemmer, K.* — Observations on the biology of sea-snakes (Hidrophiidae) with remarks on their systematics, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):101, 1966.

117. *Leal Prado, J.* — A glicemia normal nos ofídios, *Mem. Inst. Butantan,* 19: 59-68, 1946.

118. *Mertens, R.* — Unterlagen zur Ökologie, Ethologie und Evolution der Baumschlangen, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):85, 1966.

119. *Penteado, D. C. de* — Estudos histológicos das glândulas da cabeça dos ofídios brasileiros, *Mem. Inst. Butantan,* 1:27, 1918.

120. *Picado, C.* — Serpentes venenosas occorrentes em Costa Rica. I. Sôbre a espécie Bothrops lansbergii e formas affins. Seu veneno e microornamentos epidermicos, *Mem. Inst. Butantan,* 8:389, 1933-34.

121. *Picado, C.* — Serpentes venenosas occorrentes em Costa Rica. II. Sôbre a espécie Bothrops godmanni. Seu veneno e microornamentos epidérmicos, *Mem. Inst. Butantan,* 8:395, 1933-34.

122. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 3. Mais um caso de albinismo em serpente, *Mem. Inst. Butantan,* 13:9, 1939.

123. *Prado, A.* — Notas Ofiológicas. 16. Um nôvo caso de bicefalia em serpente, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:7, 1943.

124. *Prado, A. & Barros, F. P. de* — Notas Ofiológicas. 9. Duas cascavéis albinas do Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:31, 1940.

125. *Shulov, A.* — Biology and ecology of venomous animals in Israel, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(1):93, 1966.

126. *Vanzolini, P. E. & Ferreira Brandão, J. H.* — Notas sôbre algumas diferenças sexuais na folidose de Bothrops alternata D. & B., 1854, e sua variação geográfica, *Mem, Inst. Butantan,* **18**:251-258, 1944-45.

Aracnídeos e Artropodos
Sistemática

127. *Bücherl, W.* — Os Quilópolos do Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* **13**:49, 1939.

128. *Bücherl, W.* — Quilópodos novos da coleção miriapodológica do Museu Nacional do Rio de Janeiro, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:119, 1941.

129. *Bücherl, W.* — Estudos morfo-anatômicos sôbre Geofilomorfos neotrópicos, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:159, 1941.

130. *Bücherl, W.* — Catálogo dos Quilópodos da zona meotrópica, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:251, 1941.

131. *Bücherl, W.* — Estudo comparado dos órgãos sexuais externos dos Quilópodos do Brasil, baseado nos gêneros Scolopendra L. 1758, Otostigmus PORAT, 1876, Rhysida WOOD, 1862, Cryptops LEACH, 1815 Scolopocryptops NEW PORT, 1844, e Otocryptops, HAUSE, 1887, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:13, 1942.

132. *Bücherl, W.* — Contribuição ao estudo dos órgãos sexuais externos das espécies do gênero Scolopendra LINNE, mais freqüentes no Brasil. Um nôvo método morfo-comparado para a sua sistematização, *Mem. Inst. Butantan,* **16**: 37, 1942.

133. *Bücherl, W.* — Descrição de uma nova subespécies do gênero Otostigmus Porat, subgênero Coxopleurotostigmus Bücherl (Scolopendromorpha, Scolopendridae), *Mem. Inst. Butantan,* **16**:85, 1942.

134. *Bücherl, W.* — Revisão das chaves sistemáticas de Chamberlin e Attems sôbre as espécies neotrópicas do gênero Otostigmus POR., 1876 (subfam. Otostigminae KRPLN; 1903), *Mem. Inst. Butantan,* **16**:69, 1942.

135. *Bücherl, W.* — Quilópodos do Peru, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:19, 1943.

136. *Bücherl, W,* — Quilópodos do Museu Paranaense de Curitiba, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:1-10, 1946.

137. *Bücherl, W.* — Novidades sistemáticas na ordem Scolopendromorpha, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:135-158, 1946.

138. *Bücherl, W.* — Estudo comparativo das espécies brasileiras do gênero Pamphobeteus Pocock, 1901 (Mygalomorphae), *Mem. Inst. Butantan,* **20**:233-282, 1947.

139. *Bücherl, W.* — Duas novas espécies do gênero Eupalaestrus Pocock, 1901, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:297-314, 1947.

140. *Bücherl, W.* — Chilopoda das Ilhas da Queimada Grande e Pequena, *Mem. Inst. Butantan,* **21**:1-8, 1948.

141. *Bücherl, W.* — Estudos sôbre Escutigeromorfos brasileiros, *Mem. Inst. Butantan,* 21:9-54, 1948.

142. *Bücherl, W.* — Estudos sôbre o gênero Magulla Simon, 1892 (Theraphosidae, Ischnocolinae), *Mem. Inst. Butantan,* 21:261-274, 1948.

143. *Bücherl, W.* — Em torno das três espécies insulares e praianas do gênero Pamphobeteus Pocock, 1901 (Mygalomorphae), *Mem. Inst. Butantan,* 21:117-136, 1948.

144. *Bücherl, W.* — Descrição do macho de Magulla symmetrica Bücherl, 1949, *Mem. Inst. Butantan,* 22:1-10, 1949.

145. *Bücherl, W.* — Quilópodos da Venezuela. I, *Mem. Inst. Butantan,* 22:187-198, 1949.

146. *Bücherl, W.* — Quilópodos do Perú. II. *Mem. Inst. Butantan,* 22:173-186, 1949.

147. *Bücherls, W.* — Revisão das espécies do gênero Enoploctenus Simon, 1897, *Mem. Inst. Butantan,* 23:1, 1950-51.

148. *Bücherl, W.* — Aranhas do Rio Grande do Sul, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2): 127, 1952.

149. *Bücherl, W.* — Quilópodos, Aranhas e Escorpiões enviados ao Instituto Butantan para determinação, *Mem. Inst. Butantan,* 25(1):109, 1953.

150. *Bücherl, W.* — Otostigmus latipes sp. n. (Scolopendridae, Otostigminae). *Mem. Inst. Butantan,* 26:1, 1954.

151. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil. VI. Sinonimia de Bothriurus melloleitãoi Prado 1934 da fêmea de Bothriurus sigatus Pocock 1893 com Bothriurus bonariensis asper (Pocock) 1893 e de Bothriurus semiellypticus Prado 1934 com Bothriurus b. bonariensis (Koch) 1842, *Mem. Inst. Butantan,* 28:1, 1957-58.

152. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil, VIII. Simonimia de Bothriurus fragilis M. L. 1934 e B. zeugma M. L. 1945 com B. rochai M. L. 1932, com o nome definitivo de Bothriurus coriaceus rochai (Mello-Leitão) 1932, *Mem. Inst. Butantan,* 28:11, 1957-58.

153. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil, VIII. Revisão das espécies do gênero Bothriurus descritas da Argentina, *Mem. Inst. Butantan,* 28: 19, 1957-58.

154. *Bücherl, W.* — Chilopoden von Venezuela, *Mem. Inst. Butantan,* 29:233, 1959.

155. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil, IX. Combate ao escorpião, Tityus serrulatus (Buthidae, Titynae), nos terrenos da General Motors do Brasil, em S. José dos Campos, Est. de S. Paulo, *Mem. Inst. Butanta,* 29:243, 1959.

156. *Bücherl, W.* — Escorpiões e Escorpionismo no Brasil X. Catálogo da coleção escorpiônica do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* 29:255, 1959.

157. *Bürchel, W.* — Aranhas do gênero Loxosceles e "loxoscelismo" na América do Sul. I. Introdução, comentários bibliográficos, caracterização da subfamília Loxoscelinae, do gênero Loxosceles e enumeração das espécies da América do Sul, *Mem. Inst. Butantan,* 30:167, 1960-61-62.

158. *Bücherl, W.* — Revisão dos Botrurídeos da coleção escorpiônica do Museu Nacional do Rio de Janeiro, *Mem. Inst. Butantan,* 30:187, 1960-61-62.

159. *Bücherl, W.* — Luxosceles e Loxoscelismo na América do Sul. V. As espécies sul-americanas do gênero Loxosceles Heinecken e Lowe 1832, *Mem. Inst. Butantan,* 31:15, 1964.

160. *Bücherl, W., Lucas, S. & Dessimoni, V.* — Aranhas da família Ctenidae, subfamília Ctenіnae. I. Redescrição dos gêneros Ctenus Walckenaer 1805 e Phoneutria Perty 1833, *Mem. Inst. Butantan,* 31:95, 1964.

161. *Bücherl, W.; Martin, P. R. S.; Cunha, M. F. da; Matthiesen, F. A.; Zimber, S. e Bücherl, I.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. XII. Revisão sistemática e crítica dos escorpiões de gênero Bothriurus Peters 1861, *Mem. Inst. Butantan,* 30:207, 1960-61-62.

162. *Bücherl, W. & Navas, J.* — Descrição dos machos das espécies de Tityus Lutzi Giltay, 1928 e Tityus Costatus (Karsch, 1879) Género Tityus C. L. Koch, 1836; subfam. Isometrinae Birula, 1917; fam. Buthidae, (Simon, 1879), *Mem. Inst. Butantan,* 22:11-24, 1949.

163. *Gerschman de Pikelin, B. y Schiapelli, R. D.* — Contribución al conocimiento de Theraphosa lebloni (Latreille) 1804 (Aranea: Theraphosidae), *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):667, 1966.

164. *Lucas, S.* — Sôbre a posição sistemática de algumas espécies de aranhas verdadeiras do gênero Cupiennius, Simon, 1891, da família Pisauridae, *Mem. Inst. Butantan,* 31:127, 1964.

165. *Mello-Leitão, C. de* — Três aranhas novas nas collecções do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* 8:399, 1933-34.

166. *Mello-Leitão, C. de* — Novas Gonyleptidae nas collecções do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* 8:409, 1933-34.

167. *Mello-Leitão, C. de* — Três novas aranhas tetrapneumones nas collecções do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* 9:353, 1935.

168. *Mello-Leitão, C. de* — Dois gêneros raros de aranhas nas collecções do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* 9:361, 1935.

169. *Mello-Leitão, C. de* — A propósito de alguns opiliões novos, *Mem. Inst. Butantan,* 9:367, 1935.

170. *Mello-Leitão, C. de* — Notas sôbre opiliões do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* 10:289, 1935-36.

171. *Mello-Leitão, C. de* — Sôbre o gênero Trichodamon M. L., *Mem. Inst. Butantan,* 10:297, 1935-36.

172. *Mello-Leitão, C. de* — Alguns opiliões da collecção do Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* 11:275, 1937.

173. *Mello-Leitão, C. de* — Um gênero e sete espécies novas de aranhas, *Mem. Inst. Butantan,* 11:311, 1937.

174. *Mello-Leitão, C. de* — Algumas aranhas de S. Paulo e Santa Catarina, *Mem. Inst. Butantan,* 12:523, 1938-39.

175. *Prado, A.* — Uma nova espécie de escorpião do gênero Bothriurus Peters, *Mem. Inst. Butantan,* 8:145, 1933-34.

176. *Prado. A.* — Notas sôbre o Rhopalurus dorsomaculatus Prado, *Mem. Inst. Butantan,* 12:5, 1938-39.

177. *Prado, A.* — Contribuição ao conhecimento dos escorpiões sul-americanos. Sinopse das espécies de Rhopalurus, *Mem. Inst. Butantan,* 13:25, 1939.

178. *Prado, A. & Rio-Patiño, J. L.* — Contribución al estudio de los escorpiones de Colombia, *Mem. Inst. Butantan,* 13:41, 1939.

179. *Schiapelli, R. D. y Gerschman de Pikelin, B. S.* — Estudio comparativo de Phoneutria fera Perty 1833 y Phoneutria nigriventer (Keyserling) 1891 (Aranea Ctenidae), *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):675, 1966.

180. *Schubart, O.* — Os Diplopoda de algumas ilhas do litoral paulista, *Mem. Inst. Butantan,* **21**:203-254, 1948.

181. *Vellard, J.* — Um novo gênero e duas espécies novas de aranha do estado de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* 2:79, 1925.

182. *Vellard, J.* — Contribution à l'ètude des araignées. Nouvelles espèces d'Argiopidae, *Mem. Inst. Butantan,* 3:327, 1926.

Aracnídeos e Artropodos

Biologia

183. *Arvy, L.* — Données histochimiques sur la glande à venin (glande chélicérienne) des araignées dipneumones, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):711, 1966.

184. *Bücherl, W.* — Sôbre a musculatura da Scolopendra viridicornis Newp. Uma contribuição para o estudo comparativo da musculatura dos quilopodos e insetos, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:65, 1940.

185. *Bücherl, W.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. 1. Manutenção de escorpiões em viveiros e extração do veneno, *Mem. Inst. Butantan,* **25**(1):53, 1953.

186. *Bücherl, W.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. IV. Considerações em tôrno de substâncias escorpionicidas e outras medidas de combate aos escorpiões, *Mem. Inst. Butantan,* **27**:107, 1955-56.

187. *Bücherl, W.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil, V. Observações sôbre o aparelho reprodutor masculino e o acasalamento de Tityus trivittatus e Tityus bahiensis, *Mem. Inst. Butantan,* **27**:121, 1955-56.

188. *Bücherl, W.* — Fauna aracnológica e alguns aspectos ecológicos da Ilha de Trindade, *Mem. Inst. Butantan,* **29**:277, 1959.

189. *Bücherl, W.* — Distribuição geográfica dos aracnóides peçonhentos temíveis (classe Aracnomorpha, subclasse Arachnoidea, ordens Scorpiones e Araneida, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:55, 1964.

190. *Bücherl, W.* — Mecanismo da picada das aranhas peçonhentas perigosas, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:67, 1964.

191. *Bücherl, W.* — Histologia das glândulas de veneno de algumas aranhas e escorpiões, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:77, 1964.

192. *Bücherl, W.* — Biologia de artrópodos peçonhentos, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:85, 1964.

193. *Bücherl, W.* — Latrodectus e latrodectismo na América do Sul, *Mem. Inst. Butantan,* **32**:95, 1965.

194. *Delgado, A.* — Investigación ecologica sobre Loxosceles rufipes (Lucas) 1834 en la region costera del Perú, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):683, 1966.

195. *Landim, C. C. e Kitajima, E. W.* — Ultraestrutura do aparelho venenífero de Apis (Hymenoptera, Apidae), *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):701, 1966.

196. *Lucas, S.* — Estudos sôbre aranhas da família Lycosidae. 2. Sôbre o colorido de algumas espécies da subfamília Lycosinae, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:115, 1964.

197. *Lucas, S. & Bücherl, W.* — Importância dos órgãos sexuais na sistemática de aranhas. I. Variação interpopulacional dos receptáculos seminais em Actinopus crassipes (Keyserling) 1891, Actinopodidae sul-americanas, *Mem. Inst. Butantan,* 32:89, 1965.

198. *Lucas, S., Eichstedt, V. D. von & Bücherl, W.* — Sôbre o sistema nervoso de Tityus serrulatus — Titynae — Buthidae — Scorpiones, *Mem. Inst. Butantan,* 32:15, 1965.

199. *Reed, C. F.* — Spider Webs and Psychotropics, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2): 645, 1966.

200. *Vellard, J.* — La fonction venimeuse chez les araignées, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):35, 1966.

Batráquios

201. *Leão, A. T.* — Sôbre dois batráquios da Ilha dos Alcatrazes, *Mem. Ins. Butantan,* 22:63-74, 1949.

202. *Leão, A. T.* — Sôbre dois batráquios da Ilha da Queimada Grande, *Mem. Inst. Butantan,* 22:139-150, 1949.

203. *Leão, A. T. & Cochran, D. M.* — Revalidation and re-description of Bufo ocellatus Gunther, 1858 (Anura: Bufonidae), *Mem. Inst. Butantan,* 24(2),271, 1952.

204. *Vital Brazil, O. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo dos batrachios, *Mem. Inst. Butantan,* 3:7, 1926.

Botânica Médica

205. *Barros, F. P. de* — Contribuição à matéria médica vegetal do Brasil. 8. Complemento ao estudo farmacognóstico e terapêutico das várias espécies do gênero Jacaranda (Bignoniaceae), *Mem. Inst. Butantan,* 16:357, 1942.

206. *Hoehne, F. C. Kühlmann, J. G.* — Utriculárias do Rio de Janeiro e seus arredores, *Mem. Inst. Butantan,* 1:1, 1918.

207. *Peckolt, W.* — Contribuições à matéria médica vegetal do Brasil. I. Estudo pharmacognóstico da Cucurbita máxima Duch e Cucurbita pepe L. (Cucurbitaceae), *Mem. Inst. Butantan,* 8:357, 1933-34.

208. *Peckolt, W.* — Contribuições à matéria médica vegetal do Brasil. II. Estudo pharmacognóstico de Struthanthus marginatus (Desr.) Blume (Loranthaceae). Um nôvo princípio da planta, *Mem. Inst. Butantan,* 8:371, 1933-34.

209. *Peckolt, W.* — Contribuições à matéria médica vegetal do Brasil. III. Estudo pharmacognóstico do Chondrodendron platyphylum (St. Hil) Mier (Meninpermaceae), *Mem. Inst. Butantan,* 8:379, 1933-34.

210. *Peckolt, W.* — Contribuição à matéria mádica vegetal do Brasil. V. Estudo pharmacognóstico do Carica papaya L. (Caricaceae), *Mem. Inst. Butantan,* 9: 277, 1935.

211. *Peckolt, W.* — Contribuição a matéria médica vegetal do Brasil. 7. Estudo farmacognóstico de Heckeria umbellata (L.) Kunth. Piperaceae, *Mem. Inst. Butantan,* 15:59, 1941.

212. *Peckolt, W. & Prado, A.* — Contribuição á matéria vegetal do Brasil. VI. Estudo pharmacognóstico e therapêutico da jacaranda decurrens Cham. (Bignoniaceae), *Mem. Inst. Butantan,* 9:301, 1935.

Anatomia Patológica

213. *Machado, J. C.* — Alterações espontâneas da base de implantação e da túnica média muscular da aorta de cobaias. Aspectos morfológicos sugestivos do seu desenvolvimento e estudo da freqüência, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:153, 1964.

214. *Machado, J. C.* — Oclusão trombótica da artéria pulmonar de cobaias com tuberculose, *Mem. Inst. Butantan,* **32**:33, 1965.

215. *Machado, J. C.* — Formações cartilaginosas em miocárdio de Crotalus d. terrificus, *Mem. Inst. Butantan,* **32**:27, 1965.

Parasitologia

216. *Amaral, A.* — Filariose de Bancroft, Mem. Inst. Butantan, **1**:89, 1918-19.

217. *Aragão, H. de B.* — Classificação dos Hemosporídios, *Mem. Inst. Butantan,* **1**: 167, 1918-19.

218. *Arantes, J. B.* — Estudos parasitológicos. I. Do comportamento do Trypanosoma cruzi no Silenus rhesus, *Mem. Inst. Butantan,* **6**:231, 1931.

219. *Arantes, J. B.* — Estudos parasitológicos. II. Haemogregarina butantaneasis sp.n., parasita da boipeva, Ophis merremii Wagler, 1824, *Mem. Inst. Butantan,* **6**:237, 1931.

220. *Arantes, J. B.* e *Fonseca, F. da* — Pesquisas sôbre trypanosomas. I. Trypanosoma butantanense, sp.n., parasita da serpente Ophis merremii Wagler, 1824, *Mem. Inst. Butantan,* **6**:215, 1931.

221. *Arantes, J. B.* e *Fonseca, F. da* — Pesquisas sôbre trypanosomas. II. Trypanosoma manguinhense, sp. n., parasita do bugio Alauatta caraya (Humboldt, 1809), *Mem. Inst. Butantan,* **6**:223, 1931.

222. *Arantes, J. B.* e *Fonseca, F. da* — Pesquisas sôbre Trypanosomas. III. Trypanosoma merremii, sp. n., parasita da serpente Ophis merremii Wagler, 1824, *Mem. Inst. Butantan,* **6**:227, 1931.

223. *Arantes, J. B. & Fonseca, F. da* — Sôbre a possível synonymia de Trypanosoma manguinhense Arantes et Fonseca, 1931 e Trypanosoma Florestali Romaña, 1931, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:63, 1935-36.

224. *Araujo, P.* — Aspiculuris (Aspiculuris) artigasi, n. sp., (Nematoda: oxyuroidea) em Mus musculus, *Mem. Inst. Butantan,* **32**:101, 1965.

225. *Artigas, P. de T.* — Montagem de helminthos e pequenos arthropodos. Novo methodo, simples e eficiente, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:65, 1935-36.

226. *Artigas, P. de T.* — Mounting of helminthus and small arthropods. A new, simple and efficient method, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:71, 1935-36.

227. *Artigas, P. de T.* — Estudos helminthologicos. I. Paraoxyuronema brachytelesi, g. n., sp. n., parasita de Brachyteles arachnoides (Geoffr. 1806): Oxyuronemidae, fam. n. (Nematoda), *Mem. Inst. Butantan,* **10**:77, 1935-36.

228. *Artigas, P. de T. & Perez, M. D.* — Considerações sôbre Opisthorchis Pricei, Foster, 1939, O. Guayaquilensis Rodrigues, Gomez, et Montalvan, 1949 e O. pseudofelineus Ward, 1901. Descrição de Amphimerus pseudofelineus Minutus, n. sub. sp., *Mem. Inst. Butantan,* **30**:157, 1960-61-62.

229. *Artigas, P. de T. & Perez, M. D.* — Catadiscus eldoradiensis n. sp., Trematoda, Paramphistomata de Leptodactylus ocellatus, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:5, 1964.

230. *Artigas, P. de T., Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Trematóides de Ofídios. Liophistrema pulmonalis, n. g., n. sp., Liophistreminae, n. subfam., Westella sulina, n. g., n. sp. (Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan,* 16:157, 1942.

231. *Artigas, P. de T.; Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Algumas notas sôbre o gênero Opisthogonimus Luhe, 1900. Descrição de Opisthogonimus serpentis, sp. n., Trematoide de ofídeo, *Mem. Inst. Butantan,* 17:47, 1943.

232. *Brazil, V.* — A defeza contra a mosca, *Mem. Inst. Butantan,* 3:189, 1926.

233. *D'Andreta Jr., C. & Gonzalez B., D.* — Três novas espécies brasileiras de Simuliidae (Diptera Nematocera), *Mem. Int. Butantan,* 30:103, 1960-61-62.

234. *Eiehbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid (Opentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds. IV. The vermidal, antiprotozoic, antiectoparasitic and larvicidal action of anacardates, *Mem. Inst. Butantan,* 19:119-126, 1946.

235. *Eichaum, F. W.* — Potenciação da ação vermicida do hexylresorcinol por detergentes. Experiências in vitro com Ascaris de porco, *Mem. Inst. Butantan,* 20:203-218, 1947.

236. *Fain, A.* — Pentastomida of snakes. Their parasitological role in man and animals, *Mem. Inst. Butantan,* 33:167, (1), 1966.

237. *Fonseca, F. da* — Notas de acareologia. I. Papel dos acarianos do gênero Trombicula na transmissão das Rickettsias pathogenicas e applicação dessa hypothese à Rickettsia brasiliensis, Monteiro, 1931, *Mem. Inst. Butantan,* 7: 125, 1932.

238. *Fonseea, F. da* — Notas de acareologia. II. Ichoronyssus butantanensis, sp. n., (Acarina, Dermanussidae), *Mem. Inst. Butantan,* 7:135, 1932.

239. *Fonseca, F. da* — Notas de acareologia. III. Parasitismo do homem e de Cavia aperea por Liponissus bacoti (Hirst, 1913) (Acarina, Dermanyssidae), *Mem. Inst. Butantan,* 7:139, 1932.

240. *Fonseca, F. da* — Notas de acareologia. IV. Presença de Ophionyssus serpentium (Hirst, 1915) (Acarina, Dermanyssidae) no serpentario do Inst. Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* 7:145, 1932.

241. *Fonseea, F. da* — Notas de acareologia. V. Trombicula butantanensis, sp. n., (Acarina, Trombidiida), *Mem. Inst. Butantan,* 7:147, 1932.

242. *Fonseca, F. da* — Notas de acarcologia. V. Duas novas espécies de larvas do gênero Trombicula: Trombicula ophidica, sp. n., e Trombicula ewingi, sp. n., (Acarina Trombidiidae); nota sôbre Trombicula butantanensis Fl. da Fonseca, 1932 e sôbre a inexistencia da T. akamushi (Brumpt, 1910) entre nós, *Mem. Inst. Butantan,* 7:151, 1932.

243. *Fonseca, F. da* — Eimeria pintoensis, sp. n., parasita do coelho sylvestre (Sylvilagus minensis), *Mem. Inst. Butantan,* 7:173, 1932.

244. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. X. Ocorrência, em S. Paulo, e acarianos transmissores de várias modalidades de febre exanthematica e suas possíveis relações com a Rickettsiose neotropica paulista, *Mem. Inst. Butantan,* 9:27, 1935.

245. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XI. Validade de espécie e cyclo evolutivo de Amblyomma striatum Koch, 1844, (Acarina, Ixodidae), *Mem. Inst. Butantan,* 9:43, 1935.

246. *Fonseca, F. da* — Notes d'Acareologie. XI. Validité de l'éspèce et cycle evolutif de l'Amblyomma striatum Koch, 1844 (Acarina, Ixodidae), *Mem. Inst. Butantan,* 9:53, 1935.

247. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XII. Eulaelaps vitzthumi, sp. n., (Acarina, Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan,* **9**:59, 1935.

248. *Fonseca, F. da* — Acareologische Notizen. XII. Eulaelaps vitzthumi, sp. n., (Acarina, Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan,* **9**:65, 1935.

249. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XIII. Novas espécies sul-americanas de parasitos do gênero Liponissus Kolenati, 1858, (Acarina, Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan,* **9**:69, 1935.

250. *Fonseca, F. da* — Acareological Notes. XIII. New South American species of the genus Liponissus Kolenati, 1858, (Acarina, Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan,* **9**:99, 1935.

251. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XIV. Ceratonyssus joaquimi, sp. n., (Acarina, Liponissidae) parasita de Glossophaga soricina (Pallas), de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* **9**:115, 1935.

252. *Fonseca, F. da* — Acareologische Notizen. XIV. Ceratonyssus joaquimi, sp. n., (Acarina, Liponisidae) ein Parasit der Fledermaus Glossophaga soricina (Pallas) aus dem Staate S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* **9**:125, 1935.

253. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XV. Occorrência de sub-espécie de Ixodes ricinus (L., 1758) no Estado de S. Paulo (Acarina, Ixodidae), *Mem. Inst. Butantan,* **9**:131, 1935.

254. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XVI. Ixodes amarali, sp. n., (Acarina, Ixodidae), *Mem. Inst. Butantan,* **9**:137, 1935.

255. *Fonseca, F. da* — Acareological Notes. XVI. Ixodes amarali, sp. n. (Acarina, ixodidae), *Mem. Inst. Butantan,* **9**:141, 1935.

256. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XVIII. Localização, frequencia, distribuição geográphica e hospedadores de Spelaeorhynchus latus Banks, 1917 (Acarina, Spelaeorhynchidae), *Mem. Inst. Butantan,* **9**:145, 1935.

257. *Fonseca, F. da* — Trypanosomas de peixes brasileiros. Descripção de uma nova espécie, *Mem. Inst. Butantan,* **9**:149, 1935.

258. *Fonseca, F. da* — Ocorrência de formas anomalas na Leishmania brasiliensis, *Mem. Inst. Butantan,* **9**:185, 1935.

259. *Fonseca, F. da* — Trypanosoma mattogrossense, sp. n., *Mem. Inst. Butantan,* **9**:189, 1935.

260. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XVIII. Gêneros e espécies de acarianos parasitas de ratos (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan,* **10**:17, 1935-36.

261. *Fonseca, F. da* — Notas da Acareologia. XIX. Gêneros e espécies de acarianos parasitas de mamíferos (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan,* **10**: 25, 1935-36.

262. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XX. Espécies de acarianos do gênero Laelaps, parasitas de ratos do Brasil (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan,* **10**:33, 1935-36.

263. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXI. Gymnandromorphismo em Amblyomma cajennense (Fabr., 1787), *Mem. Inst. Butantan,* **10**:39, 1935-36.

264. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXII. Liponissus haematophagus, sp. n., (Acari. Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan,* **10**:43, 1935-36.

265. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXIII. Novas espécies de Trombiculinae dos gêneros Trombicula, Hannemania e Neoschongastia, *Mem. Inst. Butanta,* **10**:47, 1935-36.

266. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXIV. a) Representante brasileiro do gênero Dermanyssus Dugês, 1834 (Acari. Dermanyssidae) B) Nota sôbre o nome genérico Paralaelaps, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:51, 1935-36.

267. *Fonseca, F. da* — Nota sôbre uma espécie de Flebotomus do Brasil (Diptera. Psychodidae), *Mem. Inst. Butantan,* **10**:61, 1935-36.

268. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXV. Os Laelaptidae gigantes, parasitas de roedores sul-americanos; gênero e espécies novos (Acari), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:7, 1938-39.

269. *Fonseca, F. da* — Acareological Notes. XXV. The giant Laelaptidae, parasites of South American rodents; new genus and species (Acari.), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:55, 1938-39.

270. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXVI. Novos estudos sôbre o gênero Laelaps, Koch, 1836 (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:103, 1938-39.

271. *Fonseca, F. da* — Acareological Notes. XXVI. New studies on the genus Laelaps Koch, 1836 (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:125, 1938-39.

272. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXVII. Liponissus brasiliensis, sp. n., parasita habitual de roedores e acidental do homem, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:147, 1938-39.

273. *Fonseca, F. da* — Acareological Notes. XXVII. Liponissus brasiliensis, sp. n., usual parasite of rodents and accidental of man, *Mem. Inst. Butantan,* **12**: 155, 1938-39.

274. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXVIII. Ocorrencia de Dermanyssus gallinae (Degeer, 1778) no Brasil (Acari. Dermanyssidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:161, 1938-39.

275. *Fonseca, F. da* — Acareological Notes. XXVIII. Occurrence of Dermanyssus gallinae (Degeer, 1778) in Brazil (Acari. Dermanyssidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:163, 1938-39.

276. *Fonseca, F. da* — Protozoarios parasitas. I. Ciliado gigante, Muniziella cunhai, gen. n. sp. n., parasita de Hidrochoerus capybara (Holotricha. Pycnothrichidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:165, 1938-39.

277. *Fonseca, F. da* — Parasitische Protozoen. I. Ein Riesiges Infusor, Muniziella cunhai gen. n. sp. n., Parasit von Hyprochoerus capybara (Holotricha, Pycnothrichidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:173, 1938-39.

278. *Fonseca, F. da* — Descrição no macho de Flebotomus arthuri Fonseca, 1936, (Diptera. Psychodidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:181, 1938-39.

279. *Fonseca, F. da* — Observações sôbre o ciclo evolutivo de Porocephalus clavatus, especialmente sôbre o seu orquidotropismo em cobaias, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:185, 1938-39.

280. *Fonseca, F. da* — Espécies de Amblyopinus parasitas de Murideos e Didelfideos em S. Paulo (Coleoptera. Staphylinidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:191, 1938-39.

281. *Fonseca, F. da* — Observação de uma fase do ciclo evolutivo de Cuterebra apicalis Guerin (Diptera. Oestridae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:195, 1938-39.

282. *Fonseca, F. da* — Brachylaemus fleuryi Fons., 1939 (Fascioloidea. Brachylaemidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:197, 1938-39.

283. *Fonseca, F. da* — Brachylaemus fleuryi Fons., 1939, (Fascioloidea. Brachylaemidae), *Mem. Inst. Butantan,* **12**:203, 1938-39.

284. *Fonseca, F. da* — Protozoários parasitas. IV. Protozoários novos de tapirideos, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:43, 1940.

285. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXX. Famílias, gênero e espécie novos de acarianos parasitas do pulmão de serpentes (Acari. Pheumopnionyssidae, n. fam. e Entonyssidae, n. fam.), *Mem. Inst. Butantan,* **14**:53, 1940.

286. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXXI. Boiivilaelaps tricholabiatus, gen. n., sp. n. (Acari. Laelaptidae), *Mem. Inst. Butantan,* **14**:59, 1940.

287. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXXII. Novas espécies brasileiras do gênero Liponissus Kolenati (Acari. Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan,* **15**: 103, 1941.

288. *Fonseca, F. da* — Notas de Acareologia. XXXIV. Posição do gênero Liponissus Kolenati em face das espécies tropicais; seu desdobramento em novos gêneros (Acari. Liponissidae), *Mem. Inst. Butantan,* **16**:149, 1942.

289. *Fonseca, F. da* — Notas de Acarologia. XXXVIII. Sarcoptiformes da preguiça; Lobalges trouessarti, gen. n. sp. n., (Acari. Epidermoptidae), *Mem. Inst. Butantan,* **26**:85, 1954.

290. *Fonseca, F. da* — Notas de Acarologia. XXXIX. Sistemática e filogênese de *Psoralgidae* Oudemans, *Sarcoptiformes* parafagistas de mamíferos com morfologia de Acari plumicolas, *Mem. Inst. Butantan,* **26**:93, 1954.

291. *Fonseca, F. da* — Notes d'Acarologie. XLI. Haemolaelaps Berlese versus Atricholaelaps Ewing et Ischnolaelaps Fonseca: Ornithonyssus Sambon versus Bdellonyssus Fonseca, *Mem. Inst. Butantan,* **28**:45, 1957-58.

292. *Fonseca, F. da* — Acarologische Notizen. XLII. Geruchsorgane und Entwicklungsgeschichte der Mesostigmata und Spelaeorhynchidae (Acari), *Mem. Inst. Butantan,* **28**:55, 1957-58.

293. *Fonseca, F. da* — Notas de Acarologia, XLIII. Fauna acarológica de roedores em Ouro Prêto, *Mem. Inst. Butantan,* **28**:59, 1957-58.

294. *Fonseca, F. da* — Notas de Acarologia. XLIV. Inquérito sôbre a fauna acarológica de parasitas no nordeste do Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* **28**:99, 1957-58.

295. *Fonseca, F.* — Notas de Acarologia. XLVI. Acarofauna zooparasita na Bolívia, *Mem. Inst. Butantan,* **29**:89, 1959.

296. *Fonseca, F. da* — Atricholaelaps (Ischnolaelaps) marioi, sp. n., *Mem: Inst. Butantan,* **31**:111, 1964.

297. *Fonseca, F. da & Corrêa, R. R.* — Infecção experimental de Anopheles (Kerteszia) cruzi pelo Plasmodium vivax, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:91, 1941.

298. *Fonseca, F. da & Ramos, A. S. da* — Nôvo subgenero e novas espécies de anofelinas neotrópicas (Diptera. Culicidae). (Nota prévia), *Mem. Inst. Butantan,* **13**:383, 1939.

299. *Fonseca, J. A. B. da & Fonseca, F. da* — Leptomonas anophelini, sp. n., parasita do Anopheles eiseni, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:101, 1941.

300. *Fonseca, J. A. B. da & Fonseca, F. da* — Transmissão da malária humana por anofelinos da série tarsimaculatus, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:93, 1942.

301. *Leão, A. T.* — Discussão em tôrno dos gêneros Ochetósoma Braun, 1901, e Renifer Pratt, 1902 (Trematoda), *Mem. Inst. Butantan,* **18**:67, 1944-45.

302. *Leão, A. T.* — Sôbre um nôvo gênero de Liophistrematinae Artigas, Ruiz & Leão, 1942, (Trematoda, Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan,* **19**:33, 1946.

303. *Leão, A. T. & Eichbaum, F. W.* — Ação vermicida do óleo de cajú (Anacardium occidentale) e derivados. Experiências em cães, *Mem. Inst. Butantan*, **20**:13, 1947.

304. *Pessôa, S. B.* e *Corrêa, O.* — Notas sôbre os Oxyurus parasitos das baratas domésticas, com a descrição de uma nova espécie: Oxyurus australasiae, sp. nov., *Mem. Inst. Butantan*, **3**:71, 1926.

305. *Prado, A.* — Contribuições ao conhecimento dos culicideos de São Paulo. I. Notas sôbre Mansonia albifera Prado e sôbre o maco de M. albicosta (Chagas), *Mem. Inst. Butantan*, **6**:191, 1931.

306. *Prado, A.* — Contribuições ao conhecimento dos culicideos de São Paulo. II. Notas sôbre as espécies encontradas nos arredores da capital e sôbre a determinação de Aëdes crinifer (Theob), *Mem. Inst. Butantan*, **6**:199, 1931.

307. *Prado, A.* — Contribuições ao conhecimento dos culicideos de São Paulo. III. Notas sôbre Psorophora (Janthinosoma) discrucians (Walker) e descripção do exemplar macho, *Mem. Inst. Butantan*, **6**:205, 1931.

308. *Prado, A.* — Contribuição ao conhecimento dos culicideos de São Paulo. IV. Uma nova espécie de Uranotaenia, *Mem. Inst. Butantan*, **6**:209, 1931.

309. *Prado, A.* — Contribuição ao conhecimento dos culicideos de S. Paulo. V. Synopse das espécies de Mansonia, *Mem. Inst. Butantan*, **8**:1,1933-34.

310. *Prado, A.* — Contribuições ao conhecimento dos culicideos de S. Paulo. VI. Notas sôbre os mosquitos originários das taquaras: Sabethoide intermedius (Lutz) e Megarhinus bambusicola Lutz & Neiva, *Mem. Inst. Butantan*, **9**: 193, 1935.

311. *Prado, A.* e *Fonseca, F. da* — Um gênero nôvo e algumas espécies de sarcophagas (Diptera, Stephanostomatidae) da Cidade de São Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, **7**:159, 1932.

312. *Ruiz, J. M.* — Catadiscus freitaslenti, sp. n., (Trematoda: Paramphistomoidea), parasito de ofideo neotrópico; observação sôbre a presença de dois canais eferentes no gênero Catadiscus Cohn, 1904, *Mem. Inst. Butantan*, **17**:29, 1943.

313. *Ruiz, J. M.* — Neoctanguim travassosi, gen. n. sp. n., (Trematoda: Paramphistomoidea), parasito de quelônio marinho. Chave dos gêneros da família Microscaphidiidae Travassos, 1922, *Mem. Inst. Butantan*, **17**:35, 1943.

314. *Ruiz, J. M.* — Pronocephalidae (Trematoda). Estudos das espécies brasileiras e revisão da família, *Mem. Inst. Butantan*, **19**:249, 1946.

315. *Ruiz, J. M.* — Estudo do sistema excretor de Leptophyllum stenocotyle Cohn, 1902 (Trematoda: Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan*, **23**:45, 1950-51.

316. *Ruiz, J. M.* — Sôbre a distinção genérica dos Crotalidae (Ophidia: Crotaloidea) baseada em alguns caracteres osteológicos, *Mem. Inst. Butantan*, **23**: 109, 1950-51.

317. *Ruiz, J. M.* — Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 2. Fauna de Santos, Est. de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan*, **24** (1):17, 1952.

318. *Ruiz, J. M.* — Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 3. Fauna de Belo Horizonte Jaboticatubas, Est. de Minas Gerais, *Mem. Inst. Butantan*, **24**(1):45, 1952.

319. *Ruiz, J. M.* — Sôbre um nôvo Gnathostoma assinalado no Brasil (Nematoda: Gnathostomatidae), *Mem. Inst. Butantan*, **24**(1):37, 1952.

320. *Ruiz, J. M.* — Indices cercários específicos do Schistosoma mansoni verificados em Neves e Mariana, Est. de Minas Gerais, *Mem. Inst. Butantan,* 24(1): 63, 1952.

321. *Ruiz, J. M.* — Técnica de perfusão para a coleta de Schistosoma mansoni em animais de laboratório, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):101, 1952.

322. *Ruiz, J. M.* — Schistosomose experimental. I. Receptividade de Procyon cancrivorus à infestação pelo Schistosoma mansoni, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2), 111, 1952.

323. *Ruiz, J. M.* — Esquistossomose experimental. 3. Cuniculus pacca e Grison furax, novos animais reptíveis à infestação pelo Schistosoma mansoni, *Mem. Inst. Butantan,* 25(1):23, 1953.

324. *Ruiz, J. M.* — Preparo do antígeno para intradermo-reação na esquistossomose, *Mem. Inst. Butantan,* 25(1):5, 1953.

325. *Ruiz, J. M.* — Esquistossomose experimental. 4. Nausa narica e Didelphis paraguayensis, animais sensíveis à infestação experimental pelo Schistosoma mansoni, *Mem. Inst. Butantan,* 25(2):23, 1953.

326. *Ruiz, J. M.* — Processo rápido de perfusão do sistema porta de mamíferos para coleta de esquistossomatídeos, aplicável aos trabalhos de campo, *Mem. Inst. Butantan,* 25(2):29, 1953.

327. *Ruiz, J. M.* — Contribuição ao conhecimento das formas larvárias de trematóides brasileiros. 4. Nota sôbre o sistema excretor da cercária de Schistosoma manosni, *Mem. Inst. Butantan,* 25(2):45, 1953.

328. *Ruiz, J.* M. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 5. Descrição de três furcocercárias que ocorrem em planorbideos hospedeiros do Schistosoma mansoni, *Mem. Inst. Butantan,* 25(2):77, 1953.

329. *Ruiz, J. M. & Carvalho, J.* M. — Australorbis immunis (Lutz, 1918) hospedeiro intermediário de Schistosoma mansoni na cidade de Santos, Est. de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* 25(1):175, 1953.

330. *Ruiz, J. M. & Coelho, E.* — Schistosomose experimental. 2. Hermafroditismo do Schistosoma mansoni verificado na cobaia, *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):115, 1952.

331. *Ruiz, J. M. & Coelho, E.* — Nematóides (Oxyuroidea) parasitos de diplópodos da Ilha da Queimada Grande, S. Paulo, Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* 27:51, 1955-56.

332. *Ruiz, J. M. & Leão, T. A.* — Notas Helmintológicas. I. Três novas espécies de Opisthogonimus parasitas de ofídios brasileiros (Trematoda: Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan,* **16**:171, 1942.

333. *Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Notas Helmintológicas. 2. Algumas considerações em tôrno do gênero Leptophyllum Cohn, 1902 (Trematoda: Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan,* **16**:187, 1942.

334. *Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Notas Helmintológicas. 3. Nova espécie de trematóide do gênero Infidum Travassos, 1916, (Dicrocoeliidae), parasita de ofídio brasileiro, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:203, 1942.

335. *Ruiz, J. M. & Leão, A. T.* — Notas Helmintológicas. 4. Choledocystus vesicalis, n. sp. parasita da vesícula biliar de Bufo marinus (L.) (Trematoda: Plagiorchiidae), *Mem. Inst. Butantan,* **16**:209, 1942.

336. *Ruiz, J. M. & Rangel, J. M.* — Estrigeidas de répteis brasileiros (Trematoda: Strigeata), *Mem. Inst. Butantan,* **26**:257, 1954.

337. *Silva, P. da* — Contribuição à micologia parasitária do Brasil (Duas novas espécies de fungos produtores de maduromicose), *Mem. Inst. Butantan,* **1**:187, 1918-19.

Endocrinologia

338. *Belluomini, H. E., Mello, R. F., Penha, A. M. e Schreiber, G.* — Estudo citológico e ponderal do testiculo de Crotalus durissus terrificus durante o ciclo reprodutivo anual, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):761, 1966.

339. *Betz, T. W.* — The ovarian cycle of Natrix rhombifera — an apparently generalized cycle of snakes of temperate latitudes, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1): 115, 1966.

340. *Brandi, C. M. W., Cabib, E. & Prado, J. L.* — Identificação cromatográfica de adrenalina e arterenol na adrenal de ofidios, *Mem. Inst. Butantan,* 25(2):35, 1953.

341. *Brandi, C. M. W.; Cabib, E. & Prado, J. L.* — Chromatographic identification of adrenaline and arterenol in snake adrenals, *Mem. Inst. Butantan,* 25(2): 39, 1953.

342. *Décourt, L. & Lobo, J. I.* — Efeito da progesterona nas amenorréias, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:99, 1943.

343. *Dreyfus, A.* — Hermaphroditismo alternante proterogynico em Rhabdias fülleborni, Trav., *Mem. Inst. Butantan,* **11**:289, 1937.

344. *Dreyfus, A.* — Sôbre a evolução de ovocytos contidos no testiculo do sapo, *Mem. Inst. Butantan,* **11**:299, 1937.

345. *Fraenkel, L. & Martins, T.* — Estudos sôbre a fisiologia sexual das serpentes, *Mem. Inst. Butantan,* **13**:393, 1939.

346. *Henriques, O. B. & Henriques, S. B.* — Sôbre a determinação dos 17-cetosteróides na urina humana, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:11-22, 1946.

347. *Hoge, A. R.; Belluomini, H. E.; Schreiber, G. & Penha, A. M.* — Sexual abnormalities in Bothrops insularis (Amaral) 1921, *Mem. Inst. Butantan,* **29**: 17, 1959.

348. Lobo, *J. I. & Décourt, L.* — O tratamento do diabete insipido, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:37, 1941.

349. *Lobo, J. I. & Décourt, L.* — Alguns aspectos da evolução de cretinismo e do mongolismo, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:243, 1942.

350. *Lobo, J. I. & Décourt, L.* — Novas observações sôbre o diabete insipido, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:275, 1942.

351. *Marcondes Silva, A.* — Contribuição ao estudo de exoftalmo, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:105, 1943.

352. *Marcondes Silva, A.* — Citologia vaginal e seu emprêgo em ginecologia endócrina, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:75-100, 1944-45.

353. *Martins, T.* — Estudos sôbre gonadas e hypophyse. I. Desenvolvimento precoce dos caracteres sexuais em gallinaceos tratados com substâncias gonado-estimulantes do sôro gravídico equino, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:347, 1933-34.

354. *Martins, T.* — Pesquisas endocrinológicas. 51. Alterações histológicas e funccionamento da hypophyse enxertada em ratos, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:261, 1935-36.

355. *Martins, T.* — Pesquisas endocrinológicas. 52. Acção das altas doses de estrina sôbre a hypophyse in situ ou enxertada na câmara anterior do olho do rato, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:267, 1935-36.

356. *Martins, T. & Mello, R. F. de* — Estudos sôbre gonadas e hypophyse. II. Sôbre os resultados da parabiose de ratos fêmeas com ratos castrados e hypophysectomizados, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:353, 1933-34.

357. *Martins, T. & Valle, J. R.* — Excitação do hipogástrico e ação da adrenalina e da pitocina sôbre a musculatura lisa genital masculina de gatos e cobaios em diversas condições hormonais, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:109, 1940.

358. *Martins, T.; Porto, A. & Valle, J. R.* — Contratilidade "in vitro" de canais deferentes, vesículas seminais e prostatas de ratos castrados e injetados simultâneamente com propionato de testosterona e benzoato de estradiol, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:151, 1940.

359. *Martins, T., Valle, J. R. & Porto, A.* — Estudo in vitro da musculatura lisa genital masculina de ratos em diversas condições hormonais, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:119, 1940.

360. *Martins, T.; Valle, J. R. & Porto, A.* — Sôbre a duração do tratamento necessário para que os hormonios sexuais influam sôbre a contratilidade "in vitro", dos canais deferentes e vesículas seminais de ratos castrados, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:129, 1940.

361. *Martins, T.; Valle, J. R. & Porto, A.* — Estudo morfológico e funcional de enxêrtos de orgãos genitais acessórios de ratos e cobaios em diversas condições hormonais, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:139, 1940.

362. *Martins, T.; Valle, J. R. & Porto, A.* — Efeitos do tratamento prolongado de cadelas com o propionato de testosterona, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:237, 1942.

363. *Mello, R. F. de* — A acção synergica dos hormonios sexuaes, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:275, 1935-36.

364. *Miller de Paiva, L.* — Efeitos de um extrato pré-hipofásico sôbre as adrenais e o timo de camundongos infantis, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:101-104, 1944-45.

365. *Miller de Paiva, L.* — Ovário e adrenal. Suas relações com a alimentação e com o benzoato de estradiol, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:219-226, 1947.

366. *Pôrto, A.* — Sôbre a presença de Progesterona no corpo amarelo de serpentes ovoviviparas, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:27, 1941.

367. *Porto, A.* — Farmacologia comparada do canal deferente do coelho normal e castrado, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:75, 1943.

368. *Porto, A.* — Sôbre a passagem de substâncias androgênicas nas parabioses de ratos castrados com ratos normais, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:219, 1942.

369. *Porto, A. & Ferraz, M.* — Presença de hormonio antidiurético na hipófise de serpentes do gênero Philodryas, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:219, 1942.

370. *Porto, A. & Seavone, R.* — Efeitos da implantação de estilboestrol sôbre o aparelho reprodutor da canária (Sicalis flaveola holti Muller), *Mem. Inst. Butantan,* **15**:31, 1941.

371. *Saint, H.* — Le cycle sexuel des serpents venimeux, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(1): 105, 1966.

372. *Salvatore, C. A. & Sehreiber, G.* — Pesquisas cariometricas no ciclo estral e gravídico. Pesquisas de citologia quantitativa: IV., *Mem. Inst. Butantan,* **20**: 39-78, 1947.

373. *Salvatore, C. A. & Schreiber, G.* — Pesquisas de citologia quantitativa. V. Estudo cariométrico das células foliculares e luteínicas., *Mem. Inst. Butantan,* **20**:335-352, 1947.

374. *Schreiber, G.* — O crescimento interfásico do núcleo. Pesquisas cariométricas sôbre a espermatogênese dos ofídios, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:113-180, 1947.

375. *Slotta, C. H.* — Sôbre a chimica dos hormonios sexuaes. 1. Estado actual da questão, *Mem. Inst. Butantan,* **11**:1, 1937.

376. *Slotta, C. H. & Forster, W.* — Sôbre a chimica dos hormonios sexuaes. 3. Constituição das substâncias estrogenicas obtidas com o anol, *Mem. Inst. Butantan,* **11**:31, 1937.

377. *Slotta, C. H.; Szyszka, G. & Blanke, E.* — Sôbre a chimica dos hormonios sexuaes. 2. Obtenção da estrona da urina de eguas prenhes, *Mem. Inst. Butantan,* **11**:17, 1937.

378. *Ubisch, G. von* — Estudo sôbre femeas, machos e formas sexuaes aberrantes em Antennaria dioica (L)., Gaertn., *Mem. Inst. Butantan,* **10**:163, 1935-36.

379. *Valle, J. R.* — Estudos sôbre a physiologia da lactação. I. O emprego da fistula do papo po pombo na identificação da Prolactina, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:283, 1935-36.

380. *Valle, J. R.* — Padronisation biologique de la Prolactine, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:9, 1941.

381. *Valle, J. R.* — Sobrevida da Parelheira (Philodryas, L. sp.) depois da adrenalectomia, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:237-240, 1944-45.

382. *Valle, J. R. & Porto, A.* — Novos resultados do estudo "in vitro" da musculatura lisa genital masculina do cobaio. Influência do estilboestrol, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:1, 1941.

383. *Valle, J. R. & Porto, A.* — Teor em acetilcolina da genitalia de ratos em diferentes condições hormonais, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:65, 1943.

384. *Valle, J. R. & Porto, A.* — A note on the adrenin content of the adrenals of snakes, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:247-250, 1944-45.

385. *Valle, J. R. & Valle, L. A. R.* — Substâncias androgênicas nas gômadas de serpentes dos gêneros Bothrops e Crotalus, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:225, 1942.

386. *Valle, J. R. & Valle, L. A. R.* — Teneur en prolactine de l'hypophyse humaine selon le sexe, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:231, 1942.

387. *Valle, J. R. & Valle, L. A. R.* — Substâncias estrogênicas nos ovários das Crotalideas, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:61, 1943.

Genética-Animal

388. *Beçak, W.* — Constituição cromossômica e mecanismo de determinação do sexo em ofídios sul-americanos. I. Aspectos cariotípicos, *Mem. Inst. Butantan,* **32**: 37, 1965.

389. *Beçak, W.* — Constituição cromossômica e mecanismo de determinação do sexo em ofídios sul-americanos. II. Cromossomos sexuais e evolução do cariótipo, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(3):775, 1966.

390. *Beçak, W., Beçak, M. L. & Nazareth, H.* — Evolution and sex chromosomes in Serpentes, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(1):151, 1966.

391. *Diaz, M. O. & Saez, F. A.* — Karyotypes of South-American Araneida, *Mem. Inst Butantan,* **33**(1):153, 1966.

392. *Ohno, S.* — Evolution of vertebrates genomes, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(1):155, 1966.

393. *Schreiber, G., Mclucci, N. B., Gerken, S. E., Sant'Ana, Y. X., Fallieri, L. A. & Amorim, F. O.* — Pesquisas de citologia quantitativa. XIX. DNA e volume nuclear nos tecidos somáticos dos vertebrados, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):135, 1966.

Química

394. *Berti, F. A. & Ziti, L. M.* — The preparation of 2,6-Dinitroaniline, *Mem. Inst. Butantan,* 24:(1), 9, 1952.

395. *Berti, F. A., Reickmann, B., Perego, C. & Rzeppa, H. W.* — A produção em larga escala de 4,4'-diaminodifenilsulfona e derivados para a campanha anti-leprotica no Est. de S. Paulo, Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* 21:107, 1948.

396. *Höxter, G. & Mungiolo, R.* — Estudos electroforéticos. I. Métodos e técnica, *Mem. Inst. Butantan,* 22:75-126, 1949.

397. *Klobusitzky, D. von* — Um electro-ultrafiltro modificado, *Mem. Inst. Butantan,* 6:295, 1931.

398. *Klobusitzky, D. von* — Contribuição ao exame dos vidros para empolas, *Mem. Inst. Butantan,* 7:17, 1932.

399. *Klobusitzky, D. von* — Apparelho simples para produzir hydrogênio ou oxygênio por elecrolyse, *Mcm. Inst. Butantan,* 7:27, 1932.

400. *Klobusitsky, D. von* — Um micro-methodo para pesquisa de vários saes de estrychnina, *Mem. Inst. Butantan,* 8:105, 1933-34.

401. *Klobusitzky, D. von* — Estudos physico-chimicos sôbre proteinas em presença de alcool. I. Sôbre a coagulação pelo calor das soroproteinas em presença do alcool, *Mem. Inst. Butantan,* 8:111, 1933-34.

402. *Klobusitzky, D. von e Magyary, C. von* — Sôbre a viscosidade dos corpos albuminosos bicarbonatados, *Mem. Inst. Butantan,* 7:5, 1932.

403. *Rieckmann, B.* — Some symmetric a-aminoacetyl derivatives of 4,4'-diaminodiphenylsulfone, *Mem. Inst. Butantan,* 24:(2)77, 1952.

404. *Slotta, C. H. & Neisscr, C.* — O café sob o ponto de vista chimico. 1. Determinação do extracto e da cafeina, *Mem. Inst. Butantan,* 11:39, 1937.

405. *Slotta, C. H. & Neisser, C.* — O café sob o ponto de vista chimico. 2. Alcaloides do café, *Mem. Inst. Butantan,* 11:49, 1937.

406. *Slotta, C. H. & Neisser, C.* — O Café sob o ponto de vista chimico. 5. Três novas substâncias do café, *Mem. Inst. Butantan,* 11:71, 1937.

407. *Slotta, K. & Prinosigh, J.* — A new method of quantitative paper chromatography, *Mem. Inst. Butantan,* 24:(2)85, 1952.

408. *Slotta, C. & Szyszka, G.* — O café sob o ponto de vista chimico. 3. Uso do café no preparo de sabão ou óleo comestível, *Mcm. Inst. Butantan,* 11:55, 1937.

409. *Slatta, C. H., Ncisser, C. & Cardeal, A.* — O café sob o ponto de vista chimico. 4. Determinação e extracção do acido chlorogênico do café, *Mem. Inst. Butantan,* 11:61, 1937.

410. *Slatta, C. H., Neisser, C. & Cardeal, A.* — O café sob o ponto de vista químico. 6. Nôvo método para a determinação do ácido clorogenico no café, *Mem. Inst. Butantan,* 12:487, 1938-39.

411. *Slatta, C. H., Neisser, C. & Cardeal, A.* — O café sob o ponto de vista químico. 7. Nôvo método para a determinação da trigonelina, *Mem. Inst. Butantan,* 12:497, 1938-39.

412. *Taborda, A.* — Electrodio de vidro. Generalidades. Teoria. Tipos. Aplicaçõcs, *Mem. Inst. Butantan,* **13**:447, 1939.

413. *Taborda, A. & Navarro, J. S.* — Nova câmara para diálise, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:199, 1940.

Bacteriologia

414. *Amaral, J. P. do & Andrade, M. C. de* — Portadores do bacilo de Loeffler entre os escolares dc São Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:1-3, 1944-45.

415. *Amaral, J. P. do & Aguiar, A. A.* — Reações da precipitina em alguns Culicidas, *Mem. Inst. Butantan,* **22**:205-212, 1949.

416. *Amaral, J. P. do & Brandi, R.* — Da conservação da atividade da tuberculina diluída em líquido de Gottschall & Bunney, *Mem. Inst. Butantan,* **21**:179-186, 1948.

417. *Amaral, J. P. do & Esteves, M. B.* — Antigenos de Salmonela em bacilo Flexner II, *Mem. Inst. Butantan,* **22**:199-204, 1949.

418. *Amaral, J. P. do & Laeerda, Jr. M. G. de* — Estudos sôbre a vacinação antitífica. I. Vacinação pelo método de Felix, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:227-232, 1947.

419. *Aamaral, J. P., Bioeea, E., Bier, O. & Esteves, M. B.* — Estudos sôbre as salmoneloses em S. Paulo. III. Ocorrência dc um bacilo paracoli com antígenos de salmonela (VI, XIII, XXV, VI) em casos de diarréia infantil, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:221-228, 1946.

420. *Amaral, J. P. do & Souza e Silva, O. R. de* — Imunidade antidiftérica na mãe e no recém-nascido. Suas relações com o Schick test, *Mem. Inst. Butantan,* **18**: 9-20, 1944-45.

421. *Assumpção, L. de* — Contribuição ao estudo dos typos de meningococcos encontrados no Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* **3**:143, 1926.

422. *Assumpção, L. de & Ribas, J. C.* — Incidência de bacterias do gênero Salmonella em ratos da cidade de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:127, 1943.

423. *Bioeea, E. & Amaral, J. P.* — Estudos sôbre o tratamento da infecção tífica experimental do camundongo. I. Comportamento "in vitro" e "in vivo" de várias substâncias, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:41-48, 1946.

424. *Biocea, E. & Amaral, J. P.* — Estudos sôbre o tratamento da infecção tífica experimental do camundongo. II. Sinergismo entre medicamentos químicos sintéticos e medicamentos de origem biológica, *Mem. Inst. Butantan,* **19**: 49-58, 1946.

425. *Bioeea, E., Amaral, J. P. do & Bier, O. G.* — Estudos sôbre a quimioterapia da infecção meningocócica experimental do camundongo; derivados aminados da difenilsufona e substâncias antibióticas de origem microbiana (penicilina e piocianina), *Mem. Inst. Butantan,* **18**:37-44, 1944-45.

426. *Büller Souto, A. & Lima, C.* — Ação da vitamina C (ácido l-ascorbico) sôbre as toxinas da gangrena gazosa, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:265, 1938-39.

427. *Büller Souto, A. & Lima, C.* — Action de la vitamine C (acide l-ascorbique) sur la toxine du Bacillus perfringes, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:297, 1938-39.

428. *Calazans, S. C. de* e *Pestana, B. R.* — Emprêgo do ácido rosolico no isolamento e identificação dos bacillos do grupo coli-typhico-dysenterico em meios solidos, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:283, 1932.

429. *Carrijo, L. N., Pires, C. D. A. & Brandão, C.* — Vacinação T. A. B. Formação de aglutinina "O" no homem pelo emprêgo de vacina formolada, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:45-54, 1944-45.

430. *Leme, J. S. de M. & Carrijo, L. N.* — Vacinação T. A. B. I. Formação de aglutininas no homem resultante do emprêgo de vacina formolada, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:111, 1943.

431. *Leme, J. S. de M. & Carrijo, L. N.* — Vacinação T. A. B. 2. Vacina formolada pela via intradérmica, *Mem. Inst. Butantai,* **17**:117, 1943.

432. *Leme J. S. de M. & Carrijo, L. N.* — Nível médio de aglutininas tíficas em S. Paulo. Contribuição para o seu conhecimento, *Mem. Inst. Butantan,* **17**:121, 1943.

433. *Lemos Monteiro, J.* — As diferentes phases da autolysis do "Bacilus anthracis", *Mem. Inst. Butantan,* **2**:95, 1925.

434. *Lemos Monteiro, J.* — Presença do bacteriophago na água dos rios de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* **3**:187, 1926.

435. *Lemos Monteiro, J.* — Sôbre o phenomeno de d'Hérelle. O bacteriophago nas polpas vaccinicas glycerinadas. Considerações sôbre a natureza do phenomeno, *Mem. Inst. Butantan,* **5**:25, 1930.

436. *Lemos Monteiro, J.* e *Godinho, R.* — Do emprego do soro vaccinico no tratamento da coqueluche, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:311, 1932.

437. *Lemos Monteiro, J.* e *Travassos, J.* — Estudos experimentaes sôbre o bacillo de Friedmann, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:195, 1932.

438. *Mello, J. de T.* — Sôbre a prova de leite nas pesquisas bacteriológicas, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:423, 1941.

439. *Mello, J. de T.* — Sôbre um Proteus imóvel, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:429, 1941.

440. *Mourão, B. M.* — O papel do estreptococo no pênfigo foliaceo (fogo selvagem). Estudo clínico-bacteriológico, *Mem. Instituto Butantan,* **17**:141, 1943.

441. *Peluffo, C. A., Bier, O., Amaral, J. P. & Bioeca, E.* — Estudos sôbre as salmoneloses em S. Paulo. I. Incidência dos diferentes tipos em diarréias infantis, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:211-216, 1946.

442. *Pelluffo, C. A., Bier, O., Amaral, J. P. & Bioeea, E.* — Estudos sôbre as salmoneloses em S. Paulo. II. Um nôvo tipo de salmonela patogênica para o homem. S. Butantan (III-X-XXVI.-b-1,5...), *Mem. Inst. Butantan,* **19**:217-220, 1946.

443. *Pestana, B. R., Amaral, J. P. do & Barreto Neto, L. P.* — Tipos de C. diphteriae em S. Paulo. Reações culturais, virulencia, toxigenicidade e suas relações com os casos clinicos, *Mem. Inst. Butantan,* **13**:407, 1939.

444. *Prado Jr., F., Taborda, A. & Taborda, L. C.* — Ensaios terapêuticos com a penicilina preparada no Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:115-128, 1944-45.

445. *Ribas, J. C.* — Caracterização sorológica dos meningococos, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:315, 1942.

446. *Rodrigues, P. M.* — Tipos de bacilo de Koch na tuberculose pulmonar humana, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:329, 1942.

447. *Rodrigues, P. M.* — Contrôle de esterilidade de produtos biológicos e químicos. Técnica adotada no Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:391, 1941.

448. *Santos, P. S., Vallejo-Freire, A., Furlaneto, R. S.* and *Andrade, M. C.* — Correlation between the adsorption of diphtheria toxoid and of alizarin by aluminum oxide hydrate gels, *Mem. Inst. Butantan,* **28**:221, 1957-58.

449. *Santos, P. S., Freire, A. V., Furlanetto, R. S. e Andrade, M. C.* — Studies on the adsorption of diphteria toxoid by aluminum oxide hydrate gels, *Mem. Inst. Butantan,* **29**:197, 1959.

450. *Travassos, J.* — Estudo experimental sôbre toxina estaphylococcica, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:233, 1933-34.

Virologia

Riquetsia

451. *Amaral, A. do* e *Lemos Monteiro, J.* — Ensaio de classificação das Rickettsioses á luz dos nossos actuaes conhecimentos, *Mem. Instituto Butantan,* **7**:343, 1932.

452. *Lemos Monteiro, J.* — Estudos sôbre o typho exanthematico de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* **6**:3, 1931.

453. *Lemos Monteiro, J.* — Vaccina contra o "typho exanthematico" de S. Paulo. Novas correlações entre esta infecção e a febre maculosa das Montanhas Rochosas, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:9, 1933-34.

454. *Lemos Monteiro, J.* — Comportamento experimental do virus do "typho exanthematico" de S. Paulo após passagem pelo carrapato (Amblyomma cajennense), *Mem. Inst. Butantan,* **8**:21, 1933-34.

455. *Lemos Monteiro, J.* — Comportamento experimental do coelho aos virus do "typho exanthematico" de S. Paulo e da febre maculosa das Montanhas Rochosas, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:39, 1933-34.

456. *Lemos Monteiro, J.* — Tentativas de transmissão experimental do "typho exanthematico" de S. Paulo por percevejos (Cimex lectularius), *Mem. Inst. Butantan,* **9**:1, 1935.

457. *Lemos Monteiro, J.* — A vaccinação preventiva como base da prophylaxia do "typho exanthematico" de S. Paulo (Rickettsiose Neotropica), *Mem. Inst. Butantan,* **10**:1, 1935-36.

458. *Lemos Monteiro, J.* e *Fonseca, F. da* — Typho exanthematico de S. Paulo. XI. Novas experiências sôbre a transmissão experimental por carrapatos (Boophilus e Amblyomma cajennense), *Mem. Inst. Butantan,* **7**:33, 1932.

459. *Lemos Monteiro, J.* — Typho exanthematico de S. Paulo. XII. Sôbre um virus isolado de ratos da zona urbana da cidade e suas relações com o do typho de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:41, 1932.

460. *Lemos Monteiro, J.* e *Fonseca, F. da* — Localização da Rickettsia brasiliensis nas cellulas dos diverticulos intestinaes do Amblyomma cajennense, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:47, 1933-34.

461. *Lemos Monteiro, J., Fonseca, F. da & Prado, A.* — Pesquisas epidemiológicas sôbre o typho exanthematico de S. Paulo, *Mem. Inst. Butantan,* **6**:137, 1931.

462. *Travassos, J.* e *Lemos Monteiro, J.* — Contribuição ao estudo da reacção de Weil-Felix na infecção experimental pelos virus do "typho exanthematico" de S. Paulo e a febre maculosa das Montanhas Rochosas, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:57, 1933-34.

463. *Travassos, J. & Vallejo, A.* — Comportamento de alguns cavídeos (Cavia aperea e Hydrochoerus capybara) às inoculações experimentais do vírus da febre maculosa. Possibilidade desses cavídeos representarem o papel de depositários transitórios do vírus na natureza, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:73, 1941.

464. *Travassos, J. & Vallejo, A.* — Possibilidade de Amblyomma cajennense se infetar em Hydrochoerus capybara experimentalmente inoculado com o virus da fébre maculosa, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:87, 1941.

465. *Travassos, J. & Vallejo-Freire, A.* — Sôro anti-rickettsia na febre maculosa experimental, *Mem. Inst. Butantan,* **16**:285, 1942.

466. *Travassos, J. & Vallejo-Freire, A.* — Criação artificial de Amblyomma cajennense para o preparo da vacina contra a febre maculosa, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:145, 1944-45.

467. *Travassos, J., Rodrigues, P. M. & Carrijo, L. N.* — Tifo murino em S. Paulo. Identificação da Rickettsia mooseri isolada de um caso humano, *Mem. Inst. Butantan,* **21**:77, 1948.

468. *Vallejo-Freire, A.* — Spotted fever in México, Immunological relationship between the virus of the rickettsiosis observed in sonora and sinalvoa, México, and other spotted fever viruses, *Mem. Inst. Butantan,* **19**: 159, 1946.

469. *Vallejo-Freire, A.* — Febre maculosa no México. Cultivo de Riquétsias, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:1, 1947.

470. *Vallejo-Freire, A.* — Transmissão do virus da febre maculosa mexicana por Amblyomma striatum Koch, 1844, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:107, 1947.

471. *Vallejo-Freire, A. & Brunner Jr. A.* — Rikettsiemia experimental da febre maculosa do Brasil, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:201, 1964.

472. *Lemos Monteiro, J.* — Contribuição ao estudo das relações immunológicas entre o "thypho exanthemático" de S. Paulo e demais febres exanthemáticas que ocorram na América do Sul, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:195, 1933-34.

473. *Lemos Monteiro, J.* — O "typho exanthematico" de S. Paulo e suas relações com a febre maculosa das Montanhas Rochosas, à luz das provas de immunidade cruzada, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:207, 1933-34.

Virologia

Vírus

474. *Beçak, W. & Baixeiras, A.* — Produção de anti-corpos anti-rabicos em camundongos submetidos a radiações Beta-Gama, *Mem. Inst. Butantan,* **29**:227, 1959.

475. *Calazans, S. C. de,* e *Godinho, R.* — Possibilidade de contaminação da lympha vaccinica pelo virus da febre aphtosa, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:269, 1932.

476. *Fonseca, F. da* — Conservação da vitalidade do virus amarilico inoculado no testiculo de cobaias, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:209, 1938-39.

477. *Fonseca, F. da* — Persistance de la vitalité du virus amaril inoculé dans les testicules du cobaye, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:213, 1938-39.

478. *Fonseca, F. da* — Hipersensibilidade de um roedor brasileiro ao virus amarilico neurotrópico, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:217, 1938-39.

479. *Fonseca, F. da* — L'hypersensibilité d'un rongeur Brésilien au virus amaril neurotrope, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:221, 1938-39.

480. *Fonseca, F. da* — Comportamento do bugio Alouatta fusca Humboldt inoculado com virus amarilico Asibi, *Mem. Inst. Butantan,* **13**:363, 1939.

481. *Fonseca, F. da* — On the behaviour of the monkey Alouatta fusca Humboldt inoculated with Asibi strain of yellow fever virus, *Mem. Inst. Butantan,* **13**: 367, 1939.

482. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Sensibilidade do gato doméstico ao virus amarilico neurotrópico, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:225, 1938-39.

483. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Sensibilité du chat au virus amaril neurotrope, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:229, 1938-39.

484. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Pesquisas sôbre o comportamento de animais silvestres inoculados com virus amarilico, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:233, 1938-39.

485. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Recherches sur la sensibilité d'animaux sauvages au virus amaril, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:249, 1938-39.

486. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Inquerito sôbre a sensibilidade de Cebus cirrifer ao virus amarilico, *Mem. Inst. Butantan,* **13**:373, 1939.

487. *Fonseca, F. da & Artigas, P.* — Investigations on the sensibility of Cebus cirrifer to the yellow fever virus, *Mem. Inst. Butantan,* **13**:377, 1939.

488. *Godinho, R.* — Resistencia de differentes germes pathogenicos experimentalmente associados ao virus vaccinico, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:81, 1933-34.

489. *Godinho, R.* — Immunização com o virus vaccinico cultivado na allantoide do embryao de gallinha, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:131, 1933-34.

490. *Godinho, R.* — Immunização anti-variolica por inoculação sub-dermica de virus vaccinico filtrado, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:191, 1935-36.

491. *Godinho, R. e Klobusitzky, D. von* — Influência do pH sôbre a actividade do virus vaccinico, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:95, 1933-34.

492. *Lemos Monteiro, J.* — Estudos sôbre a febre amarella. Modernos conhecimentos sôbre a infecção experimental, *Mem. Inst. Butantan,* **5**:49, 1930.

493. *Lemos Monteiro, J. e Godinho, R.* — Do preparo da lympha vaccinica, *Mem. Inst. Butantan,* **5**:3, 1930.

494. *Lemos Monteiro, J. e Travassos, J.* — Diagnóstico sorologico da febre amarella. Sôbre a reacção de fixação do complemento, *Mem. Inst. Butantan,* **5**: 171, 1930.

495. *Lemos Monteiro, J. e Travassos, J.* — Sôbre a duração de actividade do antigeno para a reação de fixação do complemento na febre amarella, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:237, 1932.

496. *Lemos Monteiro, J. e Travassos, J.* — A reacção de fixação do complemento na determinação de focos e no diagnóstico retrospectivo da febre amerella, *Mem. Inst. Butantan,* **8**:221, 1933-34.

497. *Macedo, J. J. e Vellini, L. L.* — O uso da novocaina intravenosa como analgésico na colheita da linfa vacinica, *Mem. Inst. Butantan,* **22**:127, 1949.

498. *Vallejo-Freire, A., Brunner Jr., A. and Bcçak, W.* — Vaccinia virus multiplication in rabbit-kidney cell cultures. Aspects of the evolution cycle, *Mem. Inst. Butantan,* **28**:275, 1957-58.

499. *Vellini, L. L.* — O uso da penicilina na purificação da linfa vacinica, *Mem. Inst. Butantan,* **21**:145, 1948.

Virulogia

Microscopia Eletrônica

500. *Brunner Jr., A.* — A estrutura intrareticulocitária, *Mem. Inst. Butantan,* **30**: 15, 1960-61-62.

501. *Brunner Jr., A. & Vallejo-Freire, A.* — Estruturas em reticulócitos, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:9, 1964.

502. *Edwards, G. A., Santos, P. de S., Santos, H. L. de S., Hoge, A. R., Sawaya, P. & Vallejo-Freire, A.* — Estudos eletrono-microscópicos de músculos estriados de répteis, *Mem. Inst. Butantan,* **26**:169, 1954.

503. *Edwards, G. A.; Santos, P. S.; Santos, H. L. de S.; Hoge, A. R.; Sawaya, P. & Vallejo-Freire, A.* — Electron microscope studies of reptilian striated muscles, *Mem. Inst. Butantan,* **26**:177, 1954.

504. *Santos, P. S.; Santos, H. S.; Edwards, G. A.; Hoge, A. R. & Sawaya, P.* — Uma contribuição ao conhecimento da estrutura ultra-fina e das propiedades químicas de fibrilas do tecido conjuntivo animal, *Mem. Inst. Butantan,* **27**:1, 1955-56.

505. *Santos, P. S.; Santos, H. S.; Edwards, G. A.; Hoge, A. R. & Sawaya, P.* — A contribution to the knowledge of the fine structure and chemical properties of animal connective tissue fibrils, *Mem. Inst. Butantan,* **27**:27, 1955-56.

506. *Vallejo-Freire, A. & Brunner Jr., A.* — Eritrocitos na reticulocitose do saturnismo experimental. Estrutura mitocondrial, *Mem. Inst. Butantan,* **28**:245, 1957-58.

Immunologia

Soros

507. *Amaral, A.* — Venom and antivenin specificity: modern concept, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):293, 1966.

508. *Amaral, A. do; Arantes, J. B.* e *Fonseca, F. da* — Sôbre a duração da actividade das antitoxinas e antivenenos, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:321, 1932.

509. *Arantes, J. B. & Brandão, C. H.* — Antígenos e anticorpos botrópicos. I. Contribuição ao estudo da dosagem dos soros antibotrópicos polivalentes, *Mem. Inst. Butantan,* **21**:153-178, 1948.

510. *Arantes, J. B. & Brandão, C. H.* — Antigenos e anticorpos botrópicos. II. Contribuição ao estudo da produção de soros antibotrópicos monovalentes (Nota prévia), *Mem. Inst. Butantan,* **21**:255-260, 1948.

511. *Arantes, J. B.; Karmann, G. & Bier, O. G.* — Emprêgo da reação de floculação específica na dosagem do antiveneno crotálico, *Mem. Inst. Butantan,* **18**: 21-26, 1944-45.

512. *Barrio, A.* — Diferencias inmunológicas entre entidades simpatridas de arañas del gênero Latrodectus Walckenaer, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):865, 1966.

513. *Barrio, A. & Miranda, M. E.* — Estudio comparativo morfológico e inmunologico entre las diferentes entidades del gênero Micrurus Wagler (Ophidia, Elapidae) de la Argentina, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):869, 1966.

514. *Barrio, A. & Miranda, M. E.* — Las diferentes poblaciones de Bothrops alternata Dumeril y Bibron (Ophidia, Crotalidae) de la Argentina, consideradas desde el punto de vista morfologico y antigénico, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):887, 1966.

515. *Bier, O. G.* — Estudo quantitativo da reação de floculação entre o veneno e o antiveneno crotálico, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:27-32, 1944-45.

516. Bier, O. G. — Estudo quantitativo da reação de floculação entre o antiveneno crotálico e uma fração purificada do veneno de cascavel neotrópica (Crotalus t. terrificus), *Mem. Inst. Butantan,* **20**:31-38, 1947.

517. *Vital Brazil, O.* — Sôro antiescorpiônico, *Mem. Inst. Butantan,* **1**:47, 1918.

518. *Christensen, P. A.* — The preparation and purification of antivenoms, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):245, 1966.

519. *Christensen, P. A.* — Venom and antivenom potency estimation, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):305, 1966.

520. *Cohen, P.* — In vivo neutralization of Coral snake venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):881, 1966.

521. *Cohen, P. and Seligmann Jr., E. B.* — Immunologic studies of Coral snake venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):339, 1966.

522. *Höxter, G. & Decoussau, D.* — Concentração, purificação e controle fisico-químico dos soros antitóxicos e antipeçonhentos, *Mem. Inst. Butantan,* **21**:187-202, 1948.

523. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Sôbre a fixação da substância coagulante do veneno de Bothrops jararaca pelo sôro antiophidico, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:245, 1935-36.

524. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Sôbre a fixação específica da Bothropotoxina. I. Fixação por diversos antivenenos, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:205, 1935-36.

525. *Ktobusitzky, D. von & König, P.* — Sôbre a fixação específica da Bothropotoxina. II. Fixação pelo antiveneno lachetico, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:217, 1935-36.

526. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Novos estudos immunológicos sôbre a substância coagulante do veneno de Bothrops jararaca, *Mem. Inst. Butantan,* **11**:149, 1937.

527. *Krag, P. & Bentzon, M. W.* — Antivenin testing at different venom levels, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):251, 1966.

528. *Latifi, M. and Manhouri, H.* — Antivenin production, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):893, 1966.

529. *Ohsaka, A., Kondo, H., Kondo, S., Kurokawa, M. and Murata, R.* — Problems in determination of antihemorrhagic potency of Habu (Trimeresurus flavoviridis) antivenin in the presence of multiple hemorrhagic principles and their antibodies, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1): 331, 1966.

530. *Purananda, C., Lauhatirananda, P. & Ganthavorn, S.* — Cross immunological reaction in snake venoms, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):327, 1966.

531. Schöttler, W. H. A. — Aspectos metodológicos da titulação de soros antipeçonhentos, *Mem. Inst. Butantan,* **26**:249, 1954.

532. *Schöttler, W. H. A.* — Miscellaneous observations on snake venoms and antivenins, *Mem. Inst. Butantan,* **27**:85, 1955-56.

533. *Schöttler, W. H. A.* — Observações miscelâneas sôbre peçonhas ofidicas e antivenenos, *Mem. Inst. Butantan,* **27**:73, 1955-56.

534. *Zwisler, O.* — The role of enzymes in the processes responsible for the toxicity of snake venoms (an immunological study), *Mem. Inst. Butantan,* 33 (1):281, 1966.

Immunologia

535. *Amaral, J. P. do* — Técnica do preparo da toxina e antitoxina diftérica no Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:253, 1938-39.

536. *Amaral, J. P. do* — O emprêgo da lanolina na imunização de cavalos para produção de antitoxina diftérica, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:259, 1938-39.

537. *Amaral, J. P. do* — Observações em torno da imunidade antidiftérica, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:383, 1941.

538. *Ashear, H.* — Ensaios sôbre imunidade antiestafilocócica, *Mem. Inst. Butantan,* **15**:399, 1941.

539. *Assumpção, L. de* — O Sôro diagnóstico da syphilis pelo methodo actualmente usado no Instituto Pasteur de Paris, com soros activos, em confronto com a recção de Wassermann, *Mem. Inst. Butantan,* **3**:205, 1926.

540. *Bier, O. G. & Amaral, J. P. do* — Desencadeamento do fenômeno de Schwartzman em coelhos mediante a injeção venosa dc glicogênio puro, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:33-36, 1944-45.

541. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenoso. 1. Preparación del suero antiperfringens, *Mem. Inst. Butantan,* **12**: 393, 1938-39.

542. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenoso. 2. Preparación red suero antioedematis-maligni, *Mem. Inst. Butantan,* **12**: 435, 1938-39.

543. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenoso. 3. Preparación del suero antioedematiens, *Mem. Inst. Butantan,* **12**: 453, 1938-39.

544. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenosso. 4. Preparación del sueno antihistolyticum, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:465, 1938-39.

545. *Büller Souto, A. & Rivarola, J. B.* — Preparación del suero antigangrenoso. 5. Estandardización del suero antigangrenoso, *Mem. Inst. Butantan,* **12**: 477, 1938-39.

546. *Büller Souto, A. & Ubiseh, G. von* — Comportamento da cobaia (Cavia porcellus L.) e do preá (Cavia rufescens Lund) em relação aos antígenos tetânicos, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:313, 1938-39.

547. *Büller Souto, A. & Ubiseh, G. von* — Comportement du cobaye (Cavia porcellus L.) et du préa (Cavia rufescens Lund) vis-a-vis des antigènes tétaniques, *Mem. Inst. Butantan,* **12**:349, 1938-39.

548. *Fonseea, F. da* — Modernas technicas de preparo da antitoxina tetanica,, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:303, 1932.

549. *Godinho, R. e Travassos, J.* — Observações em torno do phenomeno de Duran-Reynals, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:243, 1932.

550. *Klobusitzky, D. von* — Estudos sôbre a unidade das fracções albuminosas do sôro, *Mem. Inst. Butantan,* **6**:275, 1931.

551. *Klobusitzky, D. von* — Concentração da antitoxina tetanica por meio de adsorpção, *Mem. Inst. Butantan,* **11**:163, 1937.

552. *Lemos Monteiro, J.* — Immunização anti-tetanica pelo methodo toxoide-toxina, *Mem. Inst. Butantan,* **2**:85, 1925.

553. *Lemos Monteiro, J.* — Sensibilidade e immunidade a diphteria. Schick-Test e Kellogg-Test, *Mem. Inst. Butantan,* **3**:137, 1926.

554. *Lemos Monteiro, J.* — Anatoxina diphterica e seu valor prático. Preparo, poder antigenico, emprego na produção de antitoxina e na prophylaxia da diphteria, *Mem. Inst. Butantan,* **3**:96, 1926.

555. *Lemos Monteiro, J.* e *Fonseca, F. da* — Modernas technicas de preparo da antitoxina tetanica, *Mem. Inst. Butantan,* **6**:267, 1931.

556. *Marrey, P.* e *Vaz, E.* — Immunização "Per os". Estudo sôbre as diferenças de poder pathogenico e immunizante de 4 amostras de *B. Shiga, Mem. Inst. Butantan,* **3**:77, 1926.

557. *Travassos, J.* e *Godinho, R.* — Influência dos estaphylococcos sôbre a actividade do virus vaccinico, *Mem. Inst. Butantan,* **7**:261, 1932.

558. *Ubisch, G. von & Amaral, J. P. do* — Differença da capacidade de immunização da cobaia (Cavia porcellus L.) e do preá (Cavia rufescens Lund) contra a anatoxina diphterica, *Mem. Inst. Butantan,* **10**:179, 1935-36.

559. *Vaz, E.* — Imunização per os contra o B. de Shiga. Contribuição ao estudo da natureza da immunidade, *Mem. Inst. Butantan,* **2**:99, 1925.

560. *Vaz, E.* — Sôbre o preparo da vaccina anti-dysenterica "per os", *Mem. Inst. Butantan,* **3**:84, 1926.

561. *Vaz, E. & Araujo, P.* — Da sangria de animais de imunização, *Mem. Inst. Butantan,* **21**:275-298, 1948.

562. *Veiga, O.* — Soro hemostático, *Mem. Inst. Butantan,* **1**:53, 1918.

Farmacologia

563. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid (Opentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds. I. General discussion. Bactericidal action, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:71-96, 1946.

564. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid (Opentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds. II. Anti-enzymatic and antitoxic action of anacardic acid and derivatives, *Mem. Inst. Butantan,* **19**: 97-112, 1946.

565. *Eichbaum, F. W.* — Bioliogical properties of anacardic acid (Opentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds. III. Antifebrile action of ana cardic acid related compounds, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:113-118, 1946.

566. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid (Opentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds. Toxicology of anacardic acid and related compounds. Clinical outlook, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:127-134, 1946.

567. *Henriques, S. B., Henriques, O. B. & Nahas, L.* — On the epinephrine- induced fall of blood eosinophils. Action of diethylstilbestrol and the adrenolytics: 2-benzylimidazoline hydrochloride (Priscol), yohimbine and pyperidinmethyloenzodioxane (933F), *Mem. Inst. Butantan,* **23**:115, 1950-51.

568. *Prado Junior, F. & Arantes, J. B.* — Poder anagotoxico das águas de São Pedro sôbre alguns venenos ofidicos, *Mem. Inst. Butantan,* **14**:157, 1940.

569. *Rosenfeld, G. & Langlada, F. G. de* — Difference between lethal doses of toxic substances injected intravenously and intraarterially, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:185. 1964.

570. *Valle, J. R.* — Sensibilidade à acetilcolina da sanguesuga Diplobdella brasiliensis (Pinto, 1920), *Mem. Inst. Butantan,* **15**:17, 1941.

Fisiologia

571. *Schenberg, S.* — A simple electric drop recorder, *Mem. Inst. Butantan,* **24**(1): 13, 1952.

572. *Sehenberg, S.* — O oxigênio na perfusão cardíaca de sapos brasileiros, *Mem. Inst. Butantan,* **28**:217, 1957-58.

573. *Valle, J. R.* — Effeitos do chlorogenato de potassio e ehlorogenato de potassio e cafeina sôbre o eoração do sapo, Bufo marinus, *Mem. Inst. Butantan,* **11**:83, 1937.

574. *Valle, J. R. & Leal Prado, J.* — Sôbre a anemia dos eães pelo benzoato de estradiol, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:199-210, 1946.

Hematologia

575. *Azevedo, M. P.* — Mecanismo de acção anticoagulante do látex de Fieus glabrata H. B. K., *Mem. Inst. Butantan,* **22**:25-30, 1949.

576. *Cavenaghi, T. M. C. M. & Rosenfeld, G.* — Preservation of bone marrow cells of dog with heparin and EDTA, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:103, 1964.

577. *Hoehne, L. & Rosenfeld, G.* — Studies of eomparative hematology. II. Hematological data of Cerdocyon thous azarae (Wied, 1826) (Caehorro do mato), *Mem. Inst. Butantan,* **25**(2):59, 1953.

578. *Hoehne, L. & Rosenfeld, G.* — Estudos de hematologia comparada. II. Dados hematológicos do cachorro do mato Cerdocyon thous azarae. (Wied, 1826), *Mem. Inst. Butantan,* **25**(2):55, 1953.

579. *Hoehne, L. & Rosenfeld, G.* — Estudos de hematologia eomparada. IV. Dados hematológieos de Bradypus tridactylus, L., 1758, (Preguiça), *Mem. Inst. Butantan,* **26**:75, 1954.

580. *Leal Prado, J.* — Hemoglobina dos ofidios. Valores normais c presença de uma forma inativa no sangue da Bothrops jararaea, *Mem. Inst. Butantan,* **18**:55-66, 1944-45.

581. *Leal Prado, J.* — Hemoglobina inativa (não combinável ao oxigênio) no sangue do cão e do homem, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:23-32, 1946.

582. *Martins, L. F.* — Contribution to the studies of coagulogram, in thoroughbred horses, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:143, 1964.

583. *Martins, L. F.; Greechi, R. & Rosenfeld, G.* — Thromboplastin generation test in normal horses and horses injeeted with tetanic toxin, *Mem. Inst. Butantan,* **31**:163, 1964.

584. *Nahas, L. & Rosenfeld, G.* — Regeneração de hemácias, hemoglobina, e proteinas em cavalos após sangria. Influêneia do ferro e da soja, *Mem. Ins. Butantan,* **24**(1):1, 1952.

585. *Rosenfeld, G.* — Observações sôbre dez casos de eliptocitose (ovaloeitose), *Mem. Inst. Butantan,* **18**:129-144, 1944-45.

586. *Rosenfeld, G.* — Método rápido de eoloração de esfregaços de sangue. Noções prátieas sôbre corantes pancrômieos e estudo de diversos fatôres, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:315-328, 1947.

587. *Rosenfeld, G.* — Corante pancrômieo para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos eomponentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprêgo rápido, *Mem. Inst. Butantan,* **20**:329-334, 1947.

588. *Rosenfeld, G. & Hoehne, L.* — Studies on comparative hematology. I. Hematologic data of Myrmecophaga t. tridaetyla L., 1758 (Tamanduá-bandeira) and Tamanduá t. tetradactyla L., 1758 (Tamanduá Mirim), *Mem. Inst. Butantan,* **25**:(1)41, 1953.

589. *Rosenfeld, G. & Hoehne, L.* — Studies of comparative hematology. III. Hematimetric data of the domestic dog. *Mem Inst. Butantan,* 25(2):69, 1953.

590. *Rosenfeld, G. & Hoehne, L.* — Estudos de hematologia comparada. III. Dados hematimétricos do cão doméstico, *Mem. Inst. Butantan,* 25(2):67, 1953.

591. *Rosenfeld, G., Nahas, L. Schenberg, S., and Beraldo, W. T.* — Absorption of fluid by red blood cells and hemolysis in shock induced by tourniquet, *Mem. Inst. Butantan,* 28:229, 1957-58.

592. *Rosenfeld, G.; Rzeppa, H. W.; Nahas, L. & Sehenberg, S.* — Hemolysis and blood concentration of sulfones "in vivo", *Mem. Inst. Butantan,* 24(2):69, 1952.

593. *Rosenfeld, G.; Sehenberg, S. and Nahas, L.* — Fluid absorption by red blood cells and hemolysis in experimental venous stasis, *Mem. Inst. Butantan,* 28: 237, 1957-58.

594. *Valle, J. R. & Leal Prado, J.* — Nota sôbre a hematologia dos ofidios. Indices de Wintrobe da Bothrops jararaca, *Mem. Inst. Butantan,* 18:241-246, 1944-45.

Venenos Ofídicos

595. *Amaral, A.* — Campanhas anti-ophidicas, *Mem. Inst. Butantan,* 5:193, 1930.

596. *Amaral, A. do* — Pontos de vista básicos na therapêutica do ophidismo, *Mem. Inst. Butantan,* 6:241, 1931.

597. *Amaral, A. do* — O soro secco como cicatrizante das ulceras produzidas pelo veneno bothropico, *Mem. Inst. Butantan,* 6:251, 1931.

598. *Amorim, M. de F., Mello, R. F. de & Saliba, F.* — Envenenamento botrópico e crotálico. Contribuição para o estudo experimental comparado das lesões, *Mem. Inst. Butantan,* 23:63, 1950-51.

599. *Araujo, P.* e *Belluomini, H. E.* — Toxicidade de venenos ofidicos. I. Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratório, *Mem. Inst. Butantan,* 30:143, 1960-61-62.

600. *Azevedo, M. P. & Martirani, I.* — Acção proteolítica do veneno da Bothrops jararaca (Wied). I. Acção sôbre hemoglobina e caseina, *Mem. Inst. Butantan,* 22:31-46, 1949.

601. *Bicher, H. I.* — Specific sites of action of snake venoms in the central nervous system, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):523, 1966.

602. *Boquet, P., Izard, Y; Jouannet, M. et Meaume, J.* — Enzymes et toxines des venins de serpents. Recherches biochimiques et immunologiques sur le venin de Naja nigricollis, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):371, 1966.

603. *Vital Brazil, O* e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo de veneno das glândulas das serpentes Aglyphas, *Mem. Inst. Butantan,* 3:301, 1926.

604. *Chapman, D. S.* — The clinico-pathology and treatment of snakebite in Southern and Central Africa, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):213, 1966.

605. *Cheymol, J., Bourillet, F.* and *Roch, M.* — Action neuromusculaire des venins de quelques Crotalidae, Elapidae, et Hydrophiidae, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):541, 1966.

606. *Deoras, P. J.* — Probable significance of venom yield record studies, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):767, 1966.

607. *Devi, A.* and *Sarkar, N. K.* — Cardiotoxic and cardiostimulating factors in cobra venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):573, 1966.

608. *Devi, A., Ashgar, S. S.* and *Sarkar, N. K.* — 5'Nucleotidase Activity in Snake Venoms, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):943, 1966.

609. *Efrati, P.* — Clinical manifestations of snake bite by Vipera xanthina palestinae (Werner) and their pathopysiological basis, *Mem. Inst. Butantan,* 33 (1):189, 1966.

610. *Eichbaum, F. W.* — Hemaglutininas nos venenos de serpentes sul-americanas, *Mem. Inst. Butantan,* 19:229-240, 1946.

611. *Eichbaum, F. W.* — Ação dermatotóxica de venenos ofídicos e sua neutralização pelos antivenenos, *Mem. Inst. Butantan,* 20:79-94, 1947.

612. *Eichbaum, F. W.* — O fator de difusão ("Spreading factor") dos venenos de Bothrops jararaca e de Crotalus terrificus terrificus, *Mem. Inst. Butantan,* 20:95-106, 1947.

613. *Elliott, W. B., Augustyn, J. M. and Gams, C.* — Some actions of snake venom on mitochondria, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):411, 1966.

614. *Gennaro, J. G. & McCollough, N. C.* — Further observations on coral snake bites in the United States: symptoms and therapy, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):855, 1966.

615. *Gillo, L.* — Les venins de serpents, source d'enzymes anticancereux. I. Aspects biochimiques fondamentaux du probleme, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):933. 1966.

616. *Hadler, W. A.* and *Vital Brazil, O.* — Pharmacology of crystalline crotoxin. IV. Nephrotoxicity. Mem. Inst. Butantan, 33(3):1001, 1966.

617. *Henriques, O. B., Fichman, M., Henriques, S. B. & Oliveira, M. C. F.* — Fractionation of the venom of Bothrops jararaca by ammonium sulphate. Purification of some of the fractions obtained, *Mem. Inst. Butantan,* 29:181, 1959.

618. *Janszky, B. & Helle, J.* — Decreased clotting time of rabbit blood induced by snake venom injection, *Mem. Inst. Butantan,* 25:1, (1), 1953.

619. *Kelen, E. M. A., Rosenfeld, G. & Nudel, F.* — Hemolytic activity of animal venoms. II. Variation in relation to erythrocyte species, *Mem. Inst. Butantan,* 30:133, 1960-61-62.

620. *Klobusitzky, D. von* — Estudos biochimicos sôbre os venenos das serpentes do gênero Bothrops. I. Ação coagulante e purificação da secreção da glândula venenosa da Bothrops jararaca, *Mem. Inst. Butantan,* 9:259, 1935.

621. *Klobusitzky, D. von* — Estudos biochimicos sôbre os venenos das serpentes do gênero Bothrops. II. Methodo aperfeiçoado para o preparo da Bothropotoxina, *Mem. Inst. Butantan,* 10:201, 1935-36.

622. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Estudos biochimicos sôbre os venenos das serpentes do gênero Bothrops. III. Separação do princípio coagulante dentre a Bothropotoxina e outras substâncias contidas na secreção natural, *Mem. Inst. Butantan,* 10:223, 1935-36.

623. *Klobusitzky, D. von & König, P.* — Estudos biochimicos sôbre os venenos das serpentes do gênero Bothrops. IV. Ação da substância coagulante in vivo, *Mem. Inst. Butantan,* 10:237, 1935-36.

624. *Kornalik, F.* — The influence of snake venom on fibrinogen conversion and fibrinolysis, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):179, 1966.



625. *Lee, C. Y.* and *Chang, C. C.* — Modes of action of purified toxins from Elapid venoms on neuromuscular transmission, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):555, 1966.

626. *Lee, C. Y., Chang, C. C., Chiu, T. H., Tseng, T. C.* and *Lee, S. Y.* — Pharmacological properties of cardiotoxin isolated from the venom of Naja naja atra, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):1009, 1966.

627. *Lieske, H* — Poisonous snake bites in Germany, *Mem. Inst. Butantan,* 33 (1):227, 1966.

628. *Lomba, M. G., Kieffer, J., Waisbieh, E. & Vital Brazil, O.* — Preparation and properties of ^{131}I-labelled Crotoxin, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):921, 1966.

629. *Mandelbaum, F. R.* and *Henriques, S. B.* — Proteolytic enzymes of Bothrops venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):359, 1966.

630. *Markwardt, F. E.* — The release of biogenic amines from blood platelets under the influence of Crotalus d. terrificus venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33 (3):851, 1966.

631. *Martirani, I. & Azevedo, M. P.* — Acção proteolitica do veneno da Bothrops jararaca (Wied). II. Acção sôbre a gelatina, *Mem. Inst. Butantan,* 22:47-62, 1949.

632. *Masek, K. & Raskova, H.* — The action of Staphilococcal alpha toxin and the venom from Bitis gabonica on rat stomach strip, *Mem. Inst. Butantan,* 33 (3):1011, 1966.

633. *MeCollough, N. C.* — The diagnosis, symptoms, treatment and sequella of envenomation by Crotalus adamanteus and genus Agkistrodon, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):175, 1966.

634. *Meaume, J., Jouannet, M., Izard, Y.* et *Boquet, P.* — Action du venin de Naja nigricollis sur la coagulation sanguine, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):929, 1966.

635. *Ohsaka, A., Omori-Satoh, T., Kondo, H., Kondo, S. & Murata, R.* — Biochemical and pathological aspects of hemorrhagic principles in snake venoms with special reference to Habu (Trimeresurus flavoviridis) venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):193, 1966.

636. *Porath, J.* — Some separation methods on molecular size and charge and their application to purification of polypeptides and proteins in snake venoms, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):379, 1966.

637. *Raab, W. & Kaiser, E.* — Nephrotoxin action of snake venoms, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):1017, 1966.

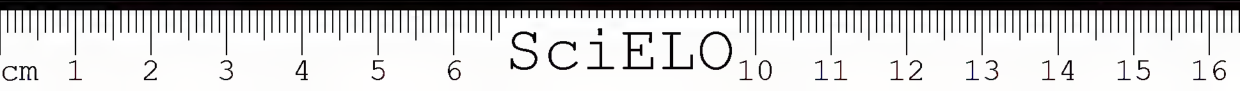
638. *Rosenfeld, G.* — Pathology of envenomation and prevention of accidents. Comments of the moderator, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):241, 1966.

639. *Rosenfeld, C. & Langlada, F. C. de* — Corticosteroid and ACTH in experimental poisoning with animal venoms, *Mem. Inst. Butantan,* 31:171, 1964.

640. *Rosenfeld, C., Hampe, O. C. & Kelen, E. M. A.* — Coagulant and fibrinolytic activity of animal venoms; Determination of coagulant and fibrinolytic index of different species, *Mem. Inst. Butantan,* 29:143, 1959.

641. *Rosenfeld, C., Kelen, E. M. A. & Nudel, F.* — Hemolytic activity of animal venoms. I. Classification in different types and activities, *Mem. Inst. Butantan* 30:117, 1960-61-62.

642. *Russell, F. E.* — Cardiovascular responses to snake venoms and their fractions, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):583, 1966.



643. *Russell, F. E.* — Metronidazole in snake venom poisoning, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):845, 1966.

644. *Saliba, F.* — Estudo anátomo-patológico da evolução da necrose produzida experimentalmente por veneno de Bothrops jararaca. Influência de substância organo-heparinóide, *Mem. Inst. Butantan,* 31:191, 1964.

645. *Schenberg, S.* — Analise da crotamina no veneno individual de cascaveis recebidas pelo Instituto Butantan, *Mem. Inst. Butantan,* 29:213, 1959.

646. *Slotta, K. & Ballester, A.* — Determinação colorimétrica da hialuronidase dos venenos ofídicos, *Mem. Inst. Butantan,* 26:311, 1954.

647. *Slotta, K. & Borchert, P.* — Sôbre o fator hemolítico dos venenos ofídicos, *Mem. Inst. Butantan,* 26:297, 1954.

648. *Slotta, C. H. & Forster, W.* — Estudos químicos sôbre os venenos ofídicos. 5. Determinação quantitativa dos componentes que contém enxofre, *Mem. Inst. Butantan,* 12:513, 1938-39.

649. *Slotta, C. H. & Fraenkel-Conrat, H. L.* — Estudos chimicos sôbre os venenos ophidicos. 2. Sôbre a forma de ligação do enxofre, *Mem. Inst. Butantan,* 11:121, 1937.

650. *Slotta, C. H. & Fraenkel-Conrat, H. L.* — Estudo químico sôbre os venenos ofídicos. 4. Purificação e cristalização do veneno da cobra Cascavel, *Mem. Inst. Butantan,* 12:505, 1938-39.

651. *Slotta, K. & Primosigh, J.* — Estudos químicos sôbre os venenos ofídicos. 6. Composição da Crotoxina, *Mem. Inst. Butantan,* 23:51, 1950-51.

652. *Slotta, C. H. & Szyszka, G.* — Estudos chimicos sôbre os venenos ophidicos. I. Determinação de sua toxicidade em camondongos, *Mem. Inst. Butantan,* 11:109, 1937.

653. *Slotta, C. H., Szyszka, G. & Fraenkel-Conrat, H. L.* — Estudos chimicos sôbre venenos ophidicos. 3. Teor da coagulação e da lecithinase, *Mem. Inst. Butantan,* 11:133, 1937.

654. *Suzuki, T.* — Pharmacologically and biochemically active components of japanese ophidian venoms, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):519, 1966.

655. *Taborda, A.* — Contribuição ao estudo da coagulação do sangue. I. Falhas nos métodos de coagulação do sangue pelos venenos de cobra, *Mem. Inst. Butantan,* 13:431, 1939.

656. *Taborda, A. & Taborda, L. C.* — Protease do veneno da Bothrops jararaca, *Mem. Inst. Butantan,* 14:181, 1940.

657. *Taborda, A. R. & Taborda, L. C.* — Da relação entre o corante dos venenos de cobra e sua fluorescência. I. Flavina no veneno da Bothrops jararaca, *Mem. Inst. Butantan,* 15:47, 1941.

658. *Taborda, L. C.* — A influência da temperatura sôbre os princípios tóxico, coagulante e proteolítico do veneno da Bothrops jararaca, *Mem. Inst. Butantan,* 14:169, 1940.

659. *Trethewie, E. R. & Rawlinson, P.* — Diagnosis of snake bite, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):235, 1966.

660. *Velasco J. M.* — Injeccion in situ de antisuero en el tratamiento de la intoxicacion por mordedura de serpiente, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):857, 1966.

661. *Vidal, J. C., Badano, B. N., Stoppani, A. O. M. and Boveris, A.* — Inhibition of electron transport chain by purified phospholipase A from Bothrops neuwiedi venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):913, 1966.

662. *Vital Brazil, O., Franceschi, J. P.* and *Waisbich, E.* — Pharmacology of crystalline crotoxin. I. Toxicity, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):973, 1966.

663. *Vital Brazil, O.* — Pharmacology of crystalline crotoxin. II. Neuromuscular blocking action, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):981, 1966.

664. *Vital Brazil, O., Fariña, R., Yoshida, L. & Oliveira, V. A.* — Pharmacology of crystalline crotoxin. III. Cardiovascular and respiratory effects of crotoxin and Crotalus durissus terrificus venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3): 993, 1966.

665. *Welsh, J. H.* — Serotonin and related tryptamine derivatives in snake venoms, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):509, 1966.

666. *Wirtheimer, C.* et *Gillo, L.* — Les venins de serpents, source d'enzymes anticancereux. II. Etude experimentale, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):937, 1966.

667. *Zeller, E. A.* — Enzymes of snake venoms as tools in biochemical research, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):349, 1966.

668. *Barrio, A. y Grasso, A. I.* — Casos de loxoscelismo grave ocurridos en la ciudad de Buenos Aires y alrededores en los ultimos años, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):809, 1966.

Venenos — Aranhas

669. *Vital Brazil, O.* e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas, *Mem. Inst. Butantan,* 2:5, 1925.

670. *Vital Brazil, O.* e *Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas, 2.ª Memória, *Mem. Inst. Butantan,* 3:243, 1926.

671. *Bücherl, W.* — Dosagem comparada da atividade dos extratos glandulares e do veneno puro de Phoneutria nigriventer (Keyserling) 1891, *Mem. Inst. Butantan,* 25(2):1, 1953.

672. *Bücherl, W.* — Nôvo processo de obtenção de veneno sêco, puro, de Phoneutria nigriventer (Keyserling, 1891) e titulação da LD_{50} em camundongos, *Mem. Inst. Butantan,* 25(1):153, 1953.

673. *Espiñoza, N. C.* — Acción del veneno de Hapalopus limensis, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):799, 1966.

674. *Gajardo-Tobar, R.* — El araneismo en el mundo tropical y subtropical, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):45, 1966.

675. *Gajardo-Tobar, R.* — Mi experiencia sobre Loxoscelismo, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):689, 1966.

676. *Kaiser, E.* — The enzymatic activity of spider venom. On the influence of sulfonated polysaccharides on the proteolytic and hyaluronic acid splitting activity of spider venom, *Mem. Inst. Butantan,* 25(1):35, 1953.

677. *Rathmayer, W.* — The effect of the poison of spider and diggerwasps on their prey (HYMENOPTERA: Pompilidae, Sphecidae), *Mem. Inst. Butantan,* 33 (2):651, 1966.

678. *Schenberg, S.* and *Lima, F. A. P.* — Pharmacology of the polypeptides from the venom of the spider Phoneutria fera, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):627, 1966.

679. *Schenone, H.* — Latrodectismo y loxoscelismo en Chile. Incidência, caracteristicas clinicas, pronostico tratamiento y prevención, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):207, 1966.

680. *Vellard, J.* — El araneismo en Bolivia, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):699, 1966.

Veneno — Escorpiões

681. *Adam, K. R.* and *Weiss, Ch.* — Some aspects of the pharmacology of the venoms of african scorpions, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):603, 1966.

682. *Bücherl, W.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. II. Atividade das peçonhas de Tityus serrulatus e T. bahiensis sôbre camundongos, *Mem. Inst. Butantan,* 25(1):83, 1953.

683. *Bücherl, W. & Pucca, N.* — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. III. Titulação, por meio de camundongos, das peçonhas de Tityus costatus (Karch). Tityus trivittatus Kraepelin, 1898 e Bothriurus bonariensis (Koch), 1842, *Mem. Inst. Butantan,* 27:41, 1955-56.

684. *Corrado, A. P., Antonio, A.* and *Diniz, C. R.* — Recent advances on the mechanism of action of Brazilian scorpion venom — T. serrulatus, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):957, 1966.

685. *Diniz, C. R., Gomez, M. V., Antonio, A. & Corrado, A. P.* — Chemical properties and biological activity of Tityus venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2): 453, 1966.

686. *Gomez, M. V.* and *Diniz, C. R.* — Separation of toxin components from the Brazilian scorpion Tityus serrulatus venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):899, 1966.

687. Pozo, *E. C. del* — Pharmacology of the venoms of mexican Centruroides, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):615, 1966.

688. Pozo, *E. C. del, Salas, M. and Pacheco, P.* — Effects of scorpion venom at neuromuscular junction, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):961, 1966.

689. *Rochat, C., Rochat, H., Miranda, F.* et *Lissitzky, S.* — Purification des neurotoxincs du scorpion Androctonus australis, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):447, 1966.

Venenos — Anfibios

690. *Bachmayer, H.* and *Michl, H.* — On the toxin of Triturus marmoratus Latr., *Mem. Inst. Butantan,* 33(3): 903, 1966.

691. *Cochran, D. M.* — Taxonomy and distribution of arrow-poison frogs in Colômbia, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):61, 1966.

692. *Daly, J. W.* and *Witkop, B.* — The Venoms of Amphibians, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):425, 1966.

693. *Lutz, B.* — Biological significance of cutaneous secretions in toads and frogs, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):55, 1966.

694. *Meyer, K.* — Cardiotoxin steroids from toads, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2): 433, 1966.

695. *Okada, M.* — Pharmacology of the components of toad venom and allied substances, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):589, 1966.

696. *Pereira, J. R.* — Sôbre a ação physiológica do veneno de sapo. II. Veneno do Sapo (Bufo marinus) e secreção urinária, *Mem. Inst. Butantan,* 3:171, 1926.

697. *Pereira, J. R.* — Sôbre a acção physiológica do veneno de Sapo. III. Veneno do Sapo (Bufo marinus) e musculo liso, *Mem. Inst. Butantan,* 3:177, 1926.

698. *Slotta, C. H. & Neisser, C.* — Estudos sôbre venenos de sapos brasileiros. 1. Composição do veneno de Bufo marinus, *Mem. Inst. Butantan,* 11:89, 1937.

699. *Slotta, C. H., Valle, J. R. & Neisser, C.* — Estudos sôbre os venenos de sapos brasileiros. 2. Sôbre a adrenalina do veneno de Bufo marinus, *Mem. Inst. Butantan,* **11**:101, 1937.

700. *Suga, T.* — On the action of bufogenins and allied compounds on the intestine and other smooth muscle organs, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):965, 1966.

Venenos — Diversos

701. *Bücherl, W.* — Ação do veneno dos escolopendromorfos do Brasil sôbre alguns animais de laboratórios, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:181-198, 1946.

702. *Corrêa, D. D.* — Taxonomia de ANTHOZOA (Coelenterata) brasileiros: distribuição e freqüência em águas brasileiras, *Mem. Inst. Butantan,* **33**(1): 27, 1966.

703. *Fain, A.* — Toxic action of rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae), *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):835, 1966.

704. *Halstead, B. W.* — *Venomous marine animals of Brazil,* Mem. Inst. Butantan, 33(1):1, 1966.

705. *Kaiser, E.* and *Raab, W.* — Liberation of pharmacologically active substances from mast cells by animal venoms, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):461, 1966.

706. *Lande, I. S. de la & Lewis, J. C.* — Constituents of the venom of the Australian bull ant, Myrmecia pyriformis, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):951, 1966.

707. *Lello, E.* — Bee venom: glands, intoxications, accidents, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):821, 1966.

708. *Mebs, D.* and *Raudonat, H. W.* — Biochemical investigation on Heloderma venom, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):907, 1966.

709. *Pesce, H. y Delgado, A.* — Lepidopterismo y erucismo. Epidemiologia y aspectos clínicos en el Perú, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):829, 1966.

710. *Picado, T. C.* — Estudo experimental sôbre o veneno de Lethocerus del-pontei (De Carlo) (Hemiptero. Belastomidae), *Mem. Inst. Butantan,* **10**:303, 1935-36.

711. *Pisano, J. J.* — Wasp kinin, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):441, 1966.

712. *Rocha e Silva, M.* — Pharmacology of venoms. Introductory remarks, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):457, 1966.

713. *Rosenberg, P.* — Use of venoms in studies on nerve excitation, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):477, 1966.

714. *Rothschild, A. M.* — Mechanism of histamine release by animal venoms, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):467, 1966.

715. *Sawaya, P.* — Toxic marine invertebrates. Venomous and noxious fishes of fresh water, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):31, 1966.

716. *Schildknecht, H.* — Vertebrate hormones as defence substances in Dytiscides, *Mem. Inst. Butantan,* 33(1):121, 1966.

717. *Slotta, K. & Borchert, P.* — Histamina e toxinas protêicas no veneno de abelha, *Mem. Inst. Butantan,* **26**:279, 1954.

718. *Suzuki, T.* — Separation methods of animal venoms constituents, *Mem. Inst. Butantan,* 33(2):389, 1966.

719. *Travassos, J. & Biocca, E.* — Ação de prata electrolisada sôbre certas toxinas, venenos, protozoários, rickettsias, vírus filtráveis e bacteriófagos (Nota prévia), *Mem. Inst. Butantan,* 16:309, 1942.

720. *Trethewie, E. R.* — Pharmacological effects of the venom of Hapalochlaena maculosa, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):861, 1966.

721. *Vannucci, M.* — Venomous Coelenterates, *Mem. Inst. Butantan,* 33(3):659, 1966.

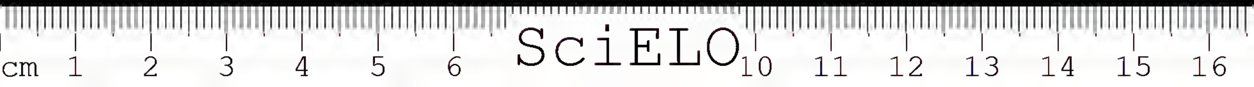
Diversos

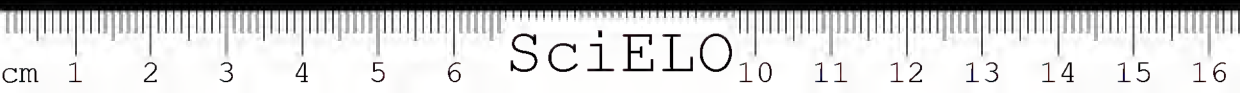
722. *Amaral, A. do* — Regras internacionais de nomenclatura zoológica, *Mem. Inst. Butantan,* 5:233, 1930.

723. *Amaral, A. do* — Regras internacionaes de nomenclatura zoológica (2.ª edição), *Mem. Inst. Butantan,* 11:241, 1937.

724. Editorial — Dr. Emílio Ribas, *Mem. Inst. Butantan,* 3:3, 1926.

725. *Schöttler, W. H. A.* — Lista suplementar de bibliografia sôbre venenos animais publicada nos anos de 1863 até 1946, *Mem. Inst. Butantan,* 26:7, 1954.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Êste trabalho foi composto e impresso
nas oficinas gráficas da



TIPOGRAFIA EDANEE S. A.

à Rua do Bosque n.º 1.426 - São Paulo

TIPOGRAFIA EDANEE S. A.
IMPRIMIU - SÃO PAULO

